UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1946-1947. — N° 34

CONTRIBUTION
AU
DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES ICTÈRES
PAR DES MÉTHODES NOUVELLES

(Travail du Laboratoire de Biologie de l'Hôpital Saint-André)

DIRECTEUR : Dr SERVANTIE

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le mercredi 22 janvier 1947

PAR

Anne-Marie-Élisabeth JOURDAIN

Ancienne Externe des Hôpitaux

Née à SAINT-AVIT-DU-MOIRON (Gironde), le 26 Septembre 1922

Examinateurs de la Thèse :

MM. DAMADE, professeur ..... *Président.*

FONTAN, professeur .....

DUBARRY, agrégé ..... *Juges.*

TRAISSAC, agrégé .....

BORDEAUX

IMPRIMERIE LIBRAIRIE DELMAS

6, Place Saint-Christoly, 6

1947

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1946-1947. — N° 34

CONTRIBUTION
AU
DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES ICTÈRES
PAR DES MÉTHODES NOUVELLES

(Travail du Laboratoire de Biologie de l'Hôpital Saint-André)

DIRECTEUR : Dr SERVANTIE

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le mercredi 22 janvier 1947

PAR

Anne-Marie-Élisabeth JOURDAIN

Ancienne Externe des Hôpitaux

Née à SAINT-AVIT-DU-MOIRON (Gironde), le 26 Septembre 1922

Examinateurs de la Thèse

MM. DAMADE, professeur ..... *Président.*

FONTAN, professeur .....
DUBARRY, agrégé ..... *Juges.*
TRAISSAC, agrégé .....

BORDEAUX

IMPRIMERIE LIBRAIRIE DELMAS

6, Place Saint-Christoly, 6

1947

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYEN : M. DUPÉRIÉ.

ASSESSEUR : M. LABAT.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. DENIGÈS, DUPOUY, A. MANDOUL, PETGES, GUYOT, ROCHER, ANDERODIAS, LANDE, DUVERGEY, CARLES, LEURET, PERY.

PROFESSEURS :

	MM.		MM.
Clinique médicale	DUPÉRIÉ.	Zoologie et parasitologie	R. SIGALAS
id.	CREYX.	Médecine expérimentale	AUBERTIN.
Clinique chirurg. et gynécol.	CHARRIER.	Clinique ophtalmologique	BEAUVIEUX.
Clinique chirurgicale	PAPIN.	Clinique chirurg. inf. et orthop.	LOUBAT.
Clinique d'accouchements	RIVIÈRE.	Clin. des maladies infectieuses	DAMADE.
Anatomie pathol. et microsc. clin.	DE GRAILLY.	Chimie biologique et médicale	MACHEBOEUF.
Anatomie	VILLEMIN.	Physique méd. et pharmaceutique.	N.
Anatomie générale et histologie.	G. DUBREUIL.	Méd. col. et clin. mal. exotiques.	BONNIN.
Hygiène	PIÉCHAUD.	Clin. malad. cutanées et syphilit.	JOULIA.
Médecine légale et déontologie	DERVILLÉE.	Clin. des mal. des voies urinaires.	DARGET.
Electroradiol. et clin. d'él. médic.	RÉCHOU.	Clin. mal. nerveuses et mentales.	DELMAS-MARSALET.
Chimie	CHELLE.	Clin. d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN.
Botanique et matière médicale	GOLSE.	Toxicologie et hygiène appliquée.	LABAT.
Pharmacie	VITTE	Hydrologie thérap. et climatol.	N...
Physiologie	FABRE.	Clinique odonto-stomatologique.	DUBECQ.
Clin. méd. des mal. des enfants.	FONTAN.		

PERRENS (Maladies mentales). FAUGÈRE (Obstétrique).

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.		MM.
Anatomie	DUFOUR.	Chirurgie générale	LAUMONIER.
Physiologie	N.	Obstétrique	N.
Médecine générale	N.	id.	MAHON.
id.	N.	Ophtalmologie	BESSIÈRES.
id.	N.	Oto-rhino-laryngologie	DESPONS.
id.	BROUSTET.	Dermatologie et syphiligraphie	LECOULANT.
id.	SARIC.	Physique médicale	REBOUL.
id	DUBARRY.	Chimie gén. pharm. et toxicol.	CASTAGNOU.
id.	TRAISSAC.	Histoire natur. pharmaceutique	GIRARD.
Chirurgie générale	N.	Pharmacie	MESNARD.
id.	MASSÉ.	id.	N.
id.	N.	Histoire natur. méd. et parasitol.	N.
id.	MAGENDIE.	Histologie	BROUSSY.
id.	POUYANNE.	Chimie médicale	TAYEAU.

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.		MM.
Médecine opératoire	MASSÉ.	Cryptogamie	GIRARD.
Accouchements	FAUGÈRE.	Pharmacie galénique	MESNARD.
Puériculture	PERY.	Bactériologie	MOUREAU.
Législation pharmaceutique	POPLAWSKI.	Physiologie	Mlle ROUGIER
Ophtalmologie	BESSIÈRES.	Chimie biologique	TAYEAU
Anatomie	RIGAUD.	Parasitologie et biologie appliqu.	PAUTRIZEL.
Chimie minérale	CASTAGNOU.	Pathologie chirurgicale	N...
Botanique	GIRARD.	Electroradiologie	CAILLON.

Le Secrétaire de la Faculté : ROUGERIE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MON PERE — A MA MERE

A MES FRERES

A MON ONCLE — A MA TANTE

A MA MARRAINE

A MON FIANCE

MEIS ET AMICIS

A MES MAITRES DE LA FACULTE

A MES MAITRES DES HOPITAUX

STAGE

1940. Monsieur le Docteur CHENUT
1941. Monsieur le Docteur E. DUBOURG
Monsieur le Professseur LOUBAT.

EXTERNAT

1942. Monsieur le Professeur DAMADE
Monsieur le Docteur LAFARGUE
1943. Monsieur le Professeur DUPÉRIÉ
Monsieur le Professeur DUBARRY
1944. Monsieur le Professeur DELMAS-MARSALET
Monsieur le Docteur E. DUBOURG
1945. Monsieur le Professeur FONTAN
Monsieur le Docteur VERGER
Monsieur le Professeur LEURET
Monsieur le Docteur LE LOURD
1946. Monsieur le Docteur SERVANTIE.

Qui, avec une parfaite bienveillance, n'ont cessé de nous guider de leurs conseils.

Nous leur adressons nos remerciements et l'expression de notre profonde reconnaissance pour l'enseignement qu'ils nous ont donné.

A Monsieur le Docteur E. DUBOURG

Médecin des Hôpitaux.

Avec l'expression de notre profonde gratitude pour ce qu'il nous a appris et l'intérêt qu'il nous a toujours témoigné.

A Monsieur le Docteur SERVANTIE

Biologiste des Hôpitaux,
Directeur du Laboratoire de Biologie de l'Hôpital Saint-André,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Croix de guerre.

Qui nous a accueilli avec tant de bienveillance dans son service, nous a inspiré le sujet de notre thèse, et, dans son développement, n'a cessé de nous aider de ses conseils éclairés.

Qu'il trouve ici l'expression de notre sincère gratitude et de notre attachement respectueusement admiratif.

A Monsieur le Professeur agrégé F.-J. TRAISSAC

Médecin des Hôpitaux.

Qui a bien voulu s'intéresser à notre travail, accepter de faire partie de notre jury de thèse: qu'il soit assuré de notre vive reconnaissance.

A Monsieur le Professeur agrégé J.-J. DUBARRY

Médecin des Hôpitaux.

Avec tous nos remerciements pour l'honneur qu'il nous a fait en voulant bien accepter de faire partie de notre jury de thèse.

A Monsieur le Professeur FONTAN

Professeur de Clinique de médecine infantile,
Médecin des Hôpitaux,
Officier d'Académie.

Sous la direction de qui, pendant six mois, nous avons travaillé avec tant de cœur et de profit.

Qu'il soit assuré de notre profonde reconnaissance et qu'il reçoive nos vifs remerciements pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de faire partie de notre jury de thèse.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur DAMADE

Professeur de Clinique des maladies infectieuses,
Médecin des Hôpitaux,
Médaille d'argent des Epidémies,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Croix de guerre,
Officier d'Académie.

Qui a guidé avec bienveillance nos débuts en médecine.

Qu'il trouve ici l'hommage de notre profonde reconnaissance pour le brillant enseignement dont il nous a fait profiter et dont nous garderons toujours le souvenir, et pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de présider cette thèse.

AVANT-PROPOS

Au cours de nos stages d'externat, nous avons été frappée par la difficulté à laquelle se heurtait si souvent le diagnostic clinique des ictères.

En terminant nos études, nous avons pu faire fonction d'interne au laboratoire de biologie de l'Hôpital Saint-André. Avec cette bienveillance affable que tant de nos aînés ont déjà appréciée, M. le Docteur Servantie a bien voulu mettre à notre disposition les techniques les plus modernes pour étudier ce problème si captivant et si décevant du diagnostic biologique des ictères.

Nous ne saurions trop remercier M. le Docteur Servantie, ainsi que nos anciens chefs de service qui ont bien voulu mettre à notre disposition leurs malades en même temps que les renseignements cliniques les plus précieux.

Dans cet ordre d'idées, à M. le Professeur Damade, à M. le Professeur Fontan, à M. le Professeur agrégé F.-J. Traissac, à M. le Docteur E. Dubourg, nous renouvelons l'expression de nos sentiments reconnaissants.

Notre travail, à notre vif regret, n'a pu être aussi complet que nous l'avions souhaité.

Nous ne pouvons oublier que, si nous avons pu mener à bien nos recherches et accumuler tous les résultats contenus dans notre thèse, nous le devons plus spécialement à l'effort de toute une équipe aux constituants parfois anonymes, mais non moins indispensables, qui, sous la direction de M. le Docteur Servantie, œuvre d'enthousiasme au Laboratoire de Biologie.

Et si, sans préciser davantage, nos remerciements vont à tous, nous nous adressons particulièrement à sœur Anne-Marie, à Mlle Saint-Laurent et à nos camarades Duplan et Mlle Lafonta, qui, tant comme moniteurs que comme collaborateurs, ne nous ont jamais ménagé leur temps, leur science, et leur patience.

CONTRIBUTION
AU
DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES ICTÈRES
PAR DES MÉTHODES NOUVELLES

INTRODUCTION

Quand il s'agit du diagnostic biologique des ictères, innombrables sont les travaux, les techniques proposées et même les travaux d'ensemble.

Nous avons consulté aussi bien des travaux étrangers que des travaux français récents.

I. — Auteurs français.

Parmi les auteurs français, les Professeurs Fiessinger, Lœper, Chabrol surtout ont marqué de leur empreinte toute une série de recherches sur l'exploration hépatique.

1° *Fiessinger* a particulièrement mis en évidence l'asynergie fonctionnelle hépatique, d'où la nécessité d'explorer simultanément plusieurs fonctions du foie afin de les comparer et d'avoir une vue d'ensemble sur la capacité fonctionnelle de l'organe, réalisant ainsi « l'instantané hépatique ».

Et c'est ainsi qu'il préconisait :

a) L'exploration de la fonction biliaire :

— par la recherche des pigments et des sels biliaires dans les urines;

— par la réaction d'Hymans van den Bergh, pratiquée sur le sérum;

— par la recherche de l'indice biliaire plasmatique (évaluation colorimétrique simple de la teinte jaune du sérum).

b) L'exploration de la fonction protidique :

— par l'établissement du coefficient de Maillard et de de préférence du coefficient ammoniacal corrigé qui tient compte des modifications apportées par le pH urinaire, variable avec les apports alimentaires;

— par le dosage des polypeptides dans le sérum et le calcul de l'indice de désamination défini par le rapport : $\frac{\text{Azote polypeptidique}}{\text{Azote total}}$.

c) L'exploration de la fonction glycopexique :

— par l'épreuve de la galactosurie provoquée.

d) L'exploration de la fonction chromagogue, sur laquelle Fiessinger insistait beaucoup, à cause des renseignements utiles donnés par l'épreuve du rose bengale, à laquelle doit s'ajouter l'étude de l'indice biliaire plasmatique dans le cas des ictères pour pouvoir en interpréter les résultats d'une façon exacte.

e) Récemment enfin Fiessinger avait attiré l'attention sur l'intérêt du dosage de certains enzymes du sérum d'origine hépatique, tel la cholinestérase.

2° *Chabrol* a mis l'accent sur l'intérêt d'étudier plus spécialement la fonction biliaire, fonction spécifiquement hépatique, à l'encontre des autres fonctions.

Et associant au dosage des pigments et des sels biliaires du sérum, celui du cholestérol et des acides gras non saturés (réaction sulfo-phospho-vanillique), il établit un « cholémogramme » dont la valeur diagnostique semble certaine, si l'on considère l'opposition qui existe entre les résultats donnés par les différents types d'ictères.

II. — Parmi les auteurs étrangers.

Dans une revue d'ensemble récente, *Léo Wade* énumère les tests d'exploration fonctionnelle hépatique les plus couramment utilisés par les auteurs américains.

1° Parmi les tests basés sur la fonction sécrétoire et excrétrice du foie :

a) la détermination quantitative de la bilirubine du sérum, ainsi que la réaction qualitative d'Hymans van den Bergh;

b) la détermination quantitative de l'urobiline dans les urines et les fèces (Watson).

2° Parmi les tests basés sur le pouvoir excréteur du foie pour diverses substances colorantes, de valeur limitée dans le cas des ictères :

— l'épreuve à la bromo-sulfone-phtaléine.

3° Parmi les tests basés sur la fonction antitoxique :

— le test de Quick, à l'acide hippurique.

4° Parmi les tests basés sur le rôle du foie :

a) dans le métabolisme des hydrates de carbone :

— l'épreuve de la galactosurie provoquée;

b) dans le métabolisme des protides :

α. le dosage global et séparé des protides sanguins;

β. certaines réactions de floculation, telles :

— la réaction à l'or colloïdal de Gray;

— la réaction céphaline cholestérol de Hanger;

— le test de turbidité au thymol de Maclagan;

γ. le dosage de la prothrombine avant et après administration de vitamine K.

c) dans le métabolisme des liquides :

— la détermination du taux du cholestérol sanguin et du rapport $\frac{\text{cholestérol estérifié}}{\text{cholestérol total}}$.

Ce sont sensiblement les mêmes méthodes que passe en

revue *Maclagan* dans une publication anglaise récente, mais cet auteur accorde plus particulièrement sa confiance, dans le cas d'un ictère, aux renseignements que donnent les tests de floculation, de la phosphatase et de la tolérance au galactose, et souligne également l'intérêt du dosage de la prothrombine dans les cas chirurgicaux.

Les auteurs suisses *Alphonse* et *Junet* s'adressent également :

— à l'épreuve de la galactosurie provoquée;

— à l'étude des protides sanguins et aux réactions de floculation protidique du sérum;

— au dosage de la prothrombine auquel ils associent l'épreuve de saturation à la vitamine K;

pour apprécier le degré de déficience hépatique au cours des différentes affections hépatiques, notamment au cours des hépatites.

Ainsi, tous ces auteurs s'accordent pour noter l'intérêt que présente l'étude des modifications des protides et de certains constituants protidiques du sérum, pour juger de l'état fonctionnel hépatique d'un sujet. Et l'on saisit encore mieux cet intérêt lorsqu'on lit l'étude récente de *Bjornboe* sur les protéines du sang dans les hépatites et les résultats de leur analyse électrophorétique au cours d'états hépatiques divers rapportés par *Gray* et *Barron*.

Aussi nous a-t-il paru intéressant d'étudier spécialement cet aspect du fonctionnement hépatique, sur lequel plusieurs publications attiraient notre attention et vers lequel nous poussaient également plusieurs méthodes nouvelles d'exploration, alors à l'étude dans le laboratoire de Biologie de l'Hôpital Saint-André.

C'est pourquoi, dans la première partie de ce travail, après avoir exposé une technique simple et précise de dosage de la bilirubine totale et directe du sang, nous examinerons successivement les résultats que nous ont donnés dans l'étude d'un certain nombre d'ictères de différentes natures :

— le dosage des protides sanguins et l'établissement du rapport albumine/globuline;

— le test de turbidité au thymol de Maclagan;

— le dosage de lá cholinestérase sérique;

— la mesure du taux de prothrombine.

Puis, dans une seconde partie, nous essaierons, par l'examen de plusieurs de nos observations, de faire une synthèse des différents éléments recueillis et d'en discuter l'intérêt.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

LA BILIRUBINÉMIE AU COURS DES ICTÈRES

A. — *Généralités.*

Dans l'étude des ictères, le dosage de la bilirubine garde toute sa valeur :

1° Pour identifier le pigment, causant la coloration des téguments et du sérum, à la bilirubine, et déterminer le caractère de celle-ci : savoir si elle donne une réaction directe, ou une réaction indirecte selon la méthode d'Hymans van den Bergh, renseignement qui pourra quelquefois apporter sa contribution au diagnostic.

2° Pour permettre une évaluation quantitative de l'ictère, car il y a souvent discordance entre l'intensité de la coloration jaune des téguments et le taux de la bilirubine. Avec une chiffre égal de pigments biliaires, la coloration de deux ictères peut sembler différente; avec une teinte jaune paraissant égale, deux malades peuvent avoir, en fait, un taux de bilirubine différent.

3° Pour suivre l'évolution de l'ictère, nous avons également préféré le dosage de la bilirubine à l'emploi de l'ictérus-index, séduisant par la simplicité de sa technique mais trop inégal dans ses résultats.

B. — *Méthode de dosage.*

De toutes les méthodes qui ont été proposées pour le dosage de la bilirubine, c'est la méthode de van den Bergh qui reste la plus importante et la plus intéressante pour le diagnostic. Nous avons adopté, avec le Docteur Servantie, la technique de Torben K. With, modification de la méthode de Jendrassik et Gröf :

— en présence de l'acide diazobenzène sulfonique (réactif de van den Bergh), la bilirubine se transforme en azobilirubine, qui devient rouge en milieu neutre, bleue en milieu alcalin ou fortement acide.

Dans un sérum normal, la réaction manque ou apparaît seulement quelques minutes après.

Dans certains cas d'ictère, elle apparaît tout de suite : c'est la « réaction directe ».

Dans d'autres cas, au contraire, elle ne se produit tout de suite que si l'on y ajoute de l'alcool ou de la caféine : c'est la « réaction indirecte ».

Entre la réaction directe et la réaction indirecte, il y a de nombreuses formes de passage, et l'on parle, par exemple, de « réaction directe retardée ».

L'emploi de l'alcool présente un inconvénient : celui de précipiter les protéines du sérum qui entraînent avec elles une partie de la bilirubine. Aussi Jendrassik et Gröf préfèrent-ils s'adresser à la caféine, afin d'éviter cette précipitation, cause d'erreur pour une détermination quantitative exacte de la bilirubine.

I. — Technique inspirée de la méthode de Jendrassik et Gröf pour le dosage de la bilirubine totale du sérum.

a) Réactifs utilisés :

— Solution de caféine :

Caféine	5 g.
Benzoate de soude	7,5 g.
Acétate de soude	12,5 g.
Eau q. s. p.	100 cm³

— Diazo-réactif :

Ses constituants :

α. Acide sulfanilique		5 g.
HCl concentré		15 g.
Eau	q. s. p.	1.000 cm³
β. Nitrite de soude		0,5 g.
Eau	q. s. p.	100 cm³

(Solution fraîchement préparée.)

Préparer, au moment du dosage, le mélange :

10 cm³ de α;
+ 6 gouttes de β.

— Liqueur de Fehling alcaline (liqueur de Fehling II) (10 g NaoH + 35 g. tartrate double de Na et K + 100 cm³ de H_2O).

b) Conduite du dosage :

Dans un tube à essai, on ajoute successivement :

1 cm³ de sérum;
2 cm³ de solution de caféine;
0,5 cm³ de diazo-réactif.

— Il se produit une teinte rouge qui va en s'intensifiant.

— Au bout de 10 minutes exactement, ajouter :

1,5 cm³ de liqueur de Fehling alcaline.

— Immédiatement, à la teinte rouge succède une teinte variant du jaune au vert ou au bleu selon la concentration en bilirubine.

c) Lecture au photomètre de Vernes, Bricq et Yvon.

On transvase alors le mélange dans la cuve du photomètre, que l'on place sur son support dans l'appareil.

On emploie l'écran rouge clair F.

Le chiffre lu sur l'échelle est alors reporté sur la courbe étalon obtenue en utilisant des solutions de bilirubine de concentration croissante : il donne en milligrammes le taux correspondant de bilirubine.

d) Remarques.

1. La caféine diazotée participe pour une faible part à la coloration verte de la réaction : d'où la nécessité de faire un tube témoin :

1 cm³ de sérum physiologique;
2 cm³ de solution de caféine;
0,5 cm³ de diazo-réactif;
1,5 cm³ de liqueur de Fehling II.

Lecture au photomètre.

La concentration en bilirubine sera donc : $C = c - e$,

c) étant la concentration donnée par la réaction globale;

e) étant le chiffre donné par la seule réaction de la caféine, calculée à chaque renouvellement du réactif.

2. La sensibilité de la méthode est plus grande pour les concentrations faibles et moyennes. Quand il s'agit d'un sérum très ictérique, il faut donc diluer avant l'analyse avec du sérum physiologique.

Le sérum dilué est examiné et le résultat est multiplié par le rapport de dilution.

3. Cette méthode de dosage peut se transformer en une microméthode quand on ne dispose que d'une petite quantité de sérum.

C'est ainsi que nous avons, le plus souvent, opéré nos dosages sur 0,2 cm³ de sérum, en divisant par 5 toutes les quantités énoncées plus haut.

4. Les chiffres de bilirubine trouvés pour des sérums normaux varient entre 7 et 15 mg. Ce chiffre est plus élevé qu'avec la méthode ordinaire, car la caféine donne des chiffres de 30 à 40 % plus élevés que l'alcool.

5. Nous avons pu vérifier qu'il n'existe pas de différence notable entre le taux de la bilirubine du plasma et le taux de bilirubine du sérum.

6. Des dosages pratiqués sur un même sérum conservé à la glacière à 1, 2, 3 ... 5 jours d'intervalle n'ont pas permis

de relever une perte appréciable de bilirubine, alors qu'avec la technique originale de van den Bergh ou celle de Malloye et K. Evelyn il n'en est pas de même.

II. — Méthode de mesure quantitative de la diazo-réaction directe.

a) Réactifs utilisés :

— Solution saturée aux 3/4 d'acétate de soude;
— Diazo-réactif;
— Liqueur de Fehling alcaline II.
(10 g. Na OH + 35 g. Na Tartrate +100 cm³ H^2O.)

b) Conduite du dosage :

Quantités	Macrométhode	Microméthode
Sérum	1 cm³	0,2 cm³
Solution d'acétate	2 cm³	0,4 cm³
Diazo-réactif	0,5 cm³	0,1 cm³
A temps déterminé : liqueur de Fehling II	1,5 cm³	0,3 cm³

c) Lecture au photomètre.

Comme pour le dosage précédent.

d) Remarques :

Pour l'adjonction de la liqueur de Fehling II à temps déterminé :

Quand on dispose d'une quantité de sérum suffisante, il est intéressant d'exécuter plusieurs réactions à des temps espacés, par exemple :

tout de suite;
après 1/2′, 1′, 2′, 5′, 10′.

Nous signalerons ici l'avantage de la microméthode.

Cela permet ainsi de suivre le cours de la réaction directe.

Au moment où l'on alcalinise, le cours de la réaction est interrompu : on mesure ainsi différents stades du cours de la réaction directe arrêtée à temps voulu.

C. — *Mécanisme des réactions directe et indirecte de la bilirubine.*

La cause des différences de réactions de la bilirubine du sérum en présence du diazo-réactif d'Hymans van den Bergh resta longtemps obscure.

1. En 1932, Benhold, et plus tard, en 1937, Waldenstrom prouvaient que toute bilirubine dans le sérum, directe ou indirecte, est liée à une fraction de protéine. On se demandait alors si les bilirubines réagissant directement ou indirectement ne présentaient pas des différences chimiques.

2. Avec Coolidge (1940), l'hypothèse de deux bilirubines différentes est abandonnée. Le problème se pose autrement :

— Y a-t-il des substances catalytiques ou inhibitrices, présentes en quantités variables dans le sérum, capables de produire des variations dans le pourcentage de la bilirubine, qui donne la réaction directe ?

— Ou bien la bilirubine ne réagissant pas directement, n'est-elle pas empêchée de le faire par une liaison définie, à une fraction des protéines du plasma ?

La vérité de la deuxième hypothèse est prouvée :

1° par le résultat des expériences de cataphorèse qui montrent que lorsqu'on fait varier le voltage, la quantité de bilirubine totale récupérée dans le liquide de cataphorèse reste parallèle à celle de l'albumine, résultat confirmé par celui des expériences d'ultrafiltration à travers des membranes de cellophane : aucune bilirubine ne passe;

2° par le résultat des réactions sur des sérums mélangés : dans un mélange à parties égales de deux sérums, ayant des proportions différentes de bilirubine réagissant directement en présence du diazo-réactif, le taux de la réaction directe du mélange est égale à la somme du taux de la bilirubine directe dans les deux sérums.

L'auteur conclut que la bilirubine du plasma réagissant directement est liée à l'albumine en un complexe dissociable (c'est elle qui est dissoute par les solvants organiques),

tandis que la bilirubine qui ne peut pas donner la réaction directe est fixée à la sérum-albumine, précipitée par le sulfate d'ammonium entre 61 et 72,5 % de saturation, par une liaison solide probablement de valence.

Le rôle de l'alcool qui provoque la réaction indirecte est purement catalytique.

Aucune corrélation ne peut être établie entre la concentration des sels biliaires dans le plasma, et le type de la réaction de van den Bergh.

3. En 1942, les travaux de Fiessinger, Polonowski et Gajdos démontrent alors que dans le cas des plasmas à réaction indirecte, le pigment biliaire est lié, non à la sérum-albumine comme dans le cas des réactions directes, mais a de la globine sous forme de Bilirubinoglobine, et ces auteurs présentent tout un faisceau d'arguments en faveur de cette thèse :

— De la bilirubine cristallisée, additionnée à une solution de globine, donne une réaction indirecte, alors que mélangée à une solution de sérum- albumine, elle donne une réaction directe.

— Il existe une extractibilité par le chloroforme, différente pour la bilirubine directe et la bilirubine indirecte : le chloroforme extrait le pigment d'un sérum réagissant indirectement et non celui d'un sérum réagissant directement. Mais si, à ce dernier, on ajoute une solution de globine, après un séjour de 24 heures à la glacière, une certaine quantité de bilirubine passe dans le chloroforme.

— Si à un sérum provenant d'un malade atteint d'un ictère hémolytique, ne donnant qu'une réaction indirecte et qu'on a épuisé au chloroforme de toute sa bilirubine, on ajoute une solution aqueuse de bilirubinate de soude, on constate que le pigment réintroduit repasse dans le chloroforme; par contre, ce phénomène ne s'observe pas sur un sérum ictérique à réaction directe.

— Si à un sérum ictérique réagissant indirectement, privé de sa bilirubine après traitement par le chloroforme, on

ajoute une solution faiblement alcaline d'hématine, on assiste à une formation d'hémoglobine aux dépens de la globine, demeurée dans le sérum.

Ainsi, Polonowski, Fiessinger et Gajdos apportent la preuve que la bilirubine, formée à partir de l'hémoglobine, passe dans le sérum en conservant sa liaison avec la globine.

Ce n'est probablement qu'au cours de la traversée hépatique que cette liaison est rompue et que la bilirubine libérée passe dans les voies biliaires.

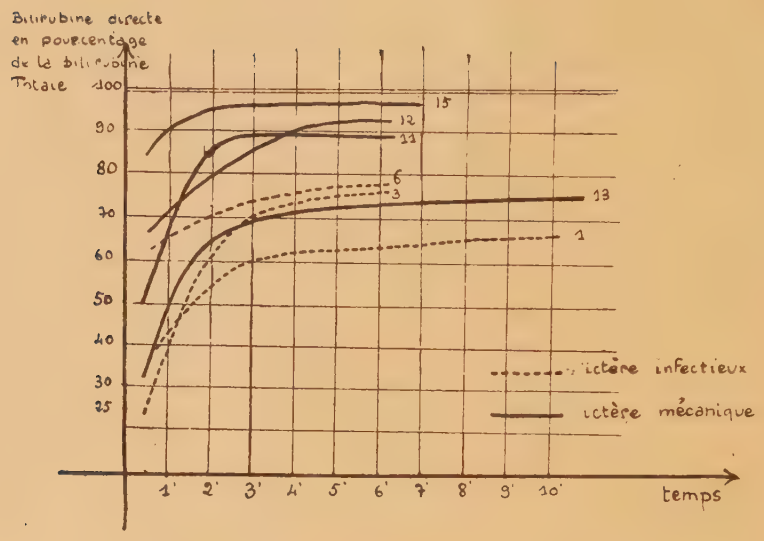
D. — *Valeur clinique des dosages quantitatifs de la bilirubine directe et de la bilirubine totale.*

Ces dosages permettent-ils d'établir une relation nette entre le pourcentage de la biririubine directe par rapport à la bilirubine totale et le type de l'ictère correspondant :

TABLEAU I

	Diagnostic.	Bilirubine totale mg. par litre	Diazo-réaction directe exprimée en % de la bilirubine totale				
			1′/2	1′	2′	5′	10′
1	Ictère infectieux bénin.....	80	—	41	56	63	65
2	» » »	50	—	60	66	72	—
3	» » »	44	25	40	65	75	—
4	» » »	140	—	—	71	—	—
5	» » »	52	—	45	—	—	—
6	Hépatite grave	130	—	67	70	77	—
7	» »	280	—	—	71	—	—
8	» »	65	—	—	83	—	—
9	Lithiase biliaire	80	—	93	—	—	—
10	» »	110	—	63	—	—	—
11	» »	57	52	—	—	87	89
12	» »	288	—	71	80	92	—
13	» »	120	33	50	66	72	75
14	Néo du pancréas	85	—	71	81	—	—
15	» »	400	—	90	95	95	—

Après la lecture du tableau I et l'examen des différentes courbes représentées ci-dessous et qui traduisent les chiffres du tableau, il n'est pas possible de tirer de conclusions.



1. D'abord il nous manque d'avoir pu doser la bilirubine dans un sérum provenant d'un malade atteint d'ictère hémolytique afin d'avoir pu établir s'il s'opposait nettement aux autres types d'ictères ainsi qu'il est classiquement admis ou si, comme le dit Torben With, il n'y aurait en fait qu'une différence peu marquée.

2. Nous n'avons donc étudié que des sérums ictériques :

— soit par obstruction des voies biliaires;
— soit par hépatite.

Entre les deux, il n'y a pas de différence bien tranchée.

Dans la majorité des cas, le pourcentage de la bilirubine « directe » est plus élevé pour les sérums ictériques par obstruction que pour les sérums ictériques par hépatite. Mais on ne peut pas individualiser pour chaque type d'ictère une courbe spécifique. Sur toutes, nous constatons un développement rapide du taux dans les deux premières minutes et un changement plus lent dans les minutes suivantes (peut-être en rapport avec des différences de stabilité des complexes bilirubine-protéine). Parmi les ictères par rétention : pour

les uns, on note une réaction directe tout de suite très élevée (courbe 15); pour d'autres, une réaction directe retardée (courbe 12).

E. — *Conclusion.*

En résumé, quand on veut doser la bilirubine du sérum, il faut utiliser une méthode par diazotation. La méthode de Jendrassik et Gröf, modifiée par With, paraît présenter le plus de garantie, et, en outre, elle peut être utilisée en micro-méthode sur 0 cm^3 2 de sérum. Par l'emploi de la caféine, elle donne un taux de bilirubine supérieur de près de 30 % aux méthodes utilisant l'alcool pour libérer la bilirubine totale. Elle permet, par l'emploi du photomètre, d'établir une courbe pour la lecture de la bilirubine directe. Elle donne une gamme très tranchée dans les doses faibles de bilirubinémie où la méthode de Hymans van den Bergh ne permet que des approximations difficiles.

CHAPITRE II

LA PROTIDEMIE DANS LES ICTERES

A. — ETUDE DES PROTEINES DU SANG DANS LES ICTERES DOSEES PAR LES METHODES COURANTES

Grâce au perfectionnement moderne des méthodes chimiques et physiques d'investigation, l'étude des protéines du sang est actuellement en pleine évolution. Chaque jour, la connaissance des constituants protidiques du sang et leur individualisation s'approfondissent et se précisent. L'étude des sérums pathologiques a commencé déjà à bénéficier pour une large part du résultat de ces travaux qui nous ouvrent des perspectives nouvelles et pleines d'intérêt. Mais les méthodes modernes que sont l'électrophorèse, l'ultracentrifugation par exemple, restent encore dans les hautes sphères de la recherche scientifique, et avant de dire quelques mots sur les résultats des études électrophorétiques des sérums d'hépatiques qui nous sont rapportés par Gray et Baron, nous étudierons les modifications que nous avons pu observer dans les protides sanguins au cours des ictères à l'aide d'un moyen de pratique courante : le dosage chimique.

Méthode de dosage employée.

Nous avons utilisé une méthode rapportée par Weichselbaum, séduisante par la simplicité de sa technique, sa rapidité, la petite quantité de sérum qu'elle nécessite et qui, à cause de tout cela, si elle n'a pas la précision des dosages pondéraux (méthode de Machebeuf), nous a paru intéressante au point de vue clinique, car elle permet des dosages rapi-

des et répétés, utiles pour porter un diagnostic et suivre l'évolution d'un ictère.

C'est une méthode colorimétrique, basée sur la coloration spécifique des protéines par le réactif du Biuret.

Réactifs employés.

1. Réactif du Biuret :

Sels de seignette, tartrate sodico-potassique	45 g.
Sulfate de cuivre 5 H_2O	15 g.
Iodure de potassium	5 g.
Soude non carbonatée $\frac{N}{5}$ q. s. p.	1.000 cm³

On dissout le sel de seignette dans 400 cm³ de soude $\frac{N}{5}$. On ajoute le sulfate de suivre que l'on fait dissoudre en tournant. On ajoute l'iodure de potassium et l'on complète à 1.000 avec la soude $\frac{N}{5}$.

2. Solution urée-thymol :

— Dissoudre 300 g. d'urée dans 700 cm³ d'eau, ajouter un cristal de thymol, chauffer et ajouter 3 g. de charbon Norit. Faire bouillir quelques minutes, filtrer et compléter à 1.000 cm³.

3. Solution de sulfate de soude saturé au 1/4 :

Peser 230 g. de sulfate de soude anhydre, le faire dissoudre, filtrer et compléter à 1.000. Tenir à l'étuve à 37° pour éviter la recristallisation.

4. Ether pur.

5. Solutions étalons :

— Faire un étalon fort avec 0 g. 360 de protéine, en utilisant une quantité suffisante de sérum titré et pesé (méthode pondérale) et en complétant à 100 cm³ avec la solution d'urée thymol.

— un étalon moyen : 0 g. 280 de protéine, soit 77,7 % d'étalon fort;

— un étalon faible : 0 g. 160, soit 44,5 % d'étalon fort.

L'étalon se conserve 12 mois à la température ordinaire.

Dosage colorimétrique.

1° *Protéines totales* :

Dans un tube à essai :

a) On mesure avec une pipette de précision :

0,2 cm³ de sérum;
4,8 de solution urée-thymol;
5 cm³ de réactif du Biuret.

b) Faire en même temps et de la même façon le mélange de :

5 cm³ d'étalon;
5 cm³ de réactif du Biuret.

c) On attend une demi-heure avant de lire au colorimètre. — Si l'on veut un résultat plus rapide, on porte les tubes au bain-marie entre 40° et 50° pendant 5 à 10 minutes et l'on fait la lecture.

2° *Protéines séparées* : dosage de la sérum-albumine par action d'une solution de sulfate de soude à 23 %.

Dans un tube à centrifuger, on met :

0,5 cm³ de sérum;
7,5 cm³ de solution de sulfate de soude;
3 cm³ d'éther.

On agite fortement le mélange (après avoir bouché le tube avec un bouchon de caoutchouc) pendant 30''. Puis on porte le tube à centrifuger (de 3 à 4.000 tours pendant 5'). A ce moment-là, on observe dans le tube trois couches : première couche superficielle d'éther; deuxième couche, la pastille de globulines précitées; troisième couche, un liquide absolument limpide qui contient la sérum-albumine.

On incline lentement ce tube pour décoller des parois la pastille de globuline. On enfonce une pipette de 5 cm³ dans la couche aqueuse en bouchant avec le doigt l'extrémité pour éviter l'entrée de l'éther et, en évitant soigneusement de rompre la pastille de globulines, on aspire alors 5 cm³ de solution claire. On prend soin de nettoyer avec un papier

filtre la pointe de la pipette avant de vider son contenu dans un tube à essai.

A ces 5 cm³ de solution, on ajoute 5 cm³ du réactif du Biuret.

Demi-heure d'attente avant la lecture.

3° *Lecture au colorimètre.* — Nous avons utilisé le colorimètre de F. Helligè.

— Le chiffre des protéines totales est donné par la formule :

$X = \frac{H}{H'} \times k$, k, coefficient qui dépend de l'étalon :

9 pour l'étalon fort;
7 pour l'étalon moyen;
4 pour l'étalon faible.

— Le chiffre de sérum-albumine est obtenu de même :

$X' = \frac{H}{H'} \times k'$, un coefficient qui est :

5,76 pour l'étalon fort ;
4,48 pour l'étalon moyen;
2,56 pour l'étalon faible.

— Le chiffre de globuline est obtenu par la différence des deux chiffres trouvés.

N.-B. — Choix de l'étalon : dans la plupart de nos dosages, nous avons utilisé l'étalon moyen, mais dans les cas d'hyperprotidémie très élevée, on a intérêt à utiliser l'étalon fort. De même dans les cas d'hypoprotidémie marquée, on utilisera l'étalon faible.

4° *Discussion de la méthode :*

— Comparée à la méthode pondérale, les variations sont de 5 %.

Mais, nous le répétons encore, le but de cette méthode est d'être simple, commode pour un usage clinique courant.

Résultats obtenus sur des sérums normaux.

(Donneurs du Service de la transfusion de l'Hôpital Saint-André.)

Voici les chiffres que nous avons obtenus :

SUJETS NORMAUX :	PROTIDES TOTAUX G. 0/00	SÉRUM ALBUMINE G. 0/00	SÉRUM ALBUMINE %	SÉRUM GLOBULINE G. 0/00	SÉRUM GLOBULINE %	$\frac{A}{G}$
Sujet 1	75	45	60	30	40	1,5
Sujet 2	77	46	59	31	41	1,48
Sujet 3	76	46	60	30	40	1,53
Sujet 4	76	47	61	29	39	1,6
Sujet 5	77	47	60	30	40	1,56
Sujet 6	74	44,8	60	29,2	40	1,5
Sujet 7	72	42,5	59	29,7	41	1,4

Etude des protéines du sérum au cours des ictères.

Des changements à la fois quantitatifs et qualitatifs des protides sériques sont communément associés au dysfonctionnement hépatique.

1° Nous étudierons d'abord les variations que peuvent présenter les taux des protides totaux au cours des ictères.

M. Lœper a récemment insisté sur l'hyperprotidémie fréquente au cours de l'ictère catarrhal. C'est dans les tout premiers jours de l'ictère qu'elle serait le plus marquée pour s'atténuer dès le quatrième ou cinquième jour, s'abaisser ensuite au-dessous de la normale pour remonter après la crise. Dans la spirochétose ictérigène, ces faits ont également été notés avec une grande netteté.

Nous n'en avons observé de semblables que dans un seul cas d'ictère infectieux.

Nous avons en effet trouvé, dans les premiers jours de la maladie, les chiffres suivants :

Protides totaux : 82,6 g. ‰.

Une semaine plus tard, ces chiffres étaient abaissés à 75,6 ‰.

— Après la crise, 77,7 g. ‰.

Dans la majorité des cas d'ictères catarrhaux apyrétiques et d'ictères infectieux fébriles qu'il nous a été possible d'étudier, nous avons trouvé des chiffres sensiblement normaux variant entre 70 g. ‰ et 77 g. ‰.

Dans le dernier stade d'une hépatite ictérigène grave, nous avons trouvé le taux des protides abaissé à 63 g. (chiffre d'ailleurs relativement peu abaissé).

Ainsi, les chiffres que nous venons de noter ressemblent beaucoup à ceux que nous avons pu observer dans les cas d'ictères par obstruction des voies biliaires, chiffres normaux dans la majorité des cas.

TABLEAU II

	DIAGNOSTIC	PROTIDES TOTAUX	Albumine	Globuline	$\frac{A}{G}$
1	Ictère infectieux bénin ..	75,2	41,6	33,6	1,2
2	» ..	70,7	33,5	37	0,92
3	» ..	69,3	34,5	34,8	1
4	» ..	78	44,8	25	1,7
5	» ..	77,7	44,8	32,9	1,3
6	» ..	72,1	36,1	35,9	1
7	Hépatite ictérigène grave (s. ictéro-œdémateux) ..	70	29	41	0,7
8	Hépatite ictérigène grave (s. ictéro-œdémateux) ..	63,9	28,4	35,5	0,8
9	Ictère cirrhotique	75	37	38	0,95
10	Cirrhose biliaire	74,5	40,3	34,2	1,17
11	Ictère lithiasique	76,3	42,1	34	1,23
12	»	71,1	36,5	34,6	1
13	»	68,7	39,9	28,8	1,4
14	»	77	45	32	1,4
15	»	70,7	42,5	28,2	1,5
16	»	75	36	39	0,85
17	Néo du pancréas	67,5	34	33,5	1

2° Beaucoup plus intéressantes et importantes sont les modifications du rapport $\frac{\text{sérum albumine}}{\text{sérum globuline}}$, observées au cours des affections hépatiques, non seulement au cours des

cirrhoses où elles sont le plus nettes, mais aussi au cours de certains ictères.

Toutes les recherches s'accordent en effet pour montrer qu'il existe dans tous les cas de déficience hépatique une chute de la sérum-albumine et une augmentation de la sérum-globuline, le rapport $\frac{A}{G}$ tendant par conséquent à s'inverser. C'est bien ce que nous avons constaté dans de nombreux cas à des degrés variables, selon le stade de la maladie, sa gravité, sa nature.

Mais avant d'examiner en détail ces résultats, nous voulons dire quelques mots des relations qui existent entre ces perturbations protidiques et le fonctionnement hépatique en essayant d'en préciser le mécanisme.

Le rôle du foie dans la protidogénèse est certain quoique non encore parfaitement défini. Les expériences de Kerr, de Wipple sur le chien mettent en évidence l'importance du foie dans la régénération des protides après une saignée, cette régénération étant considérablement troublée lorsqu'il existe une altération traumatique du parenchyme hépatique.

Si, pendant longtemps, on a admis que le foie était le lieu de formation de tous les protides du sérum, les travaux récents tendent à prouver, au contraire, la dualité d'origine de l'albumine d'une part, de la globuline d'autre part, se basant sur plusieurs faits d'expérience, en particulier la différence de comportement entre les albumines et les globulines chez les animaux en carence protéique (expériences de Weech, de Dumont) et, dans les cas d'œdème de famine chez l'homme, les albumines étant touchées les premières.

La sérum-albumine est bien synthétisée par le foie :

— Travaux de Henriques et Klausen : hypoalbuminémie dans l'intoxication phosporée provoquée.

— Etude du bilan azoté chez des cirrhotiques par Post et

Patch : chez les cirrhotiques, l'ingestion de fortes quantités de protides maintient un bilan azoté positif, mais le sang ne s'enrichit pas en sérum-albumine. La cirrhose du foie empêche la synthèse de celle-ci. L'hypoalbuminémie des états de carence est, au contraire, influencée par l'ingestion des protides, tant que la fonction hépatique n'est pas atteinte.

Mais la formation des globulines, au groupe desquelles appartiennent les anticorps, est sous la dépendance du système réticulo-endothélial. Certains auteurs américains : Ehrich, Harris, Mertens, ont en particulier établi le rôle important des lymphocytes des ganglions lymphatiques dans la formation de γ globulines, dont la mise en liberté serait réglée par un mécanisme hypophyso-cortico-surrénalien (Seyle, Courrier).

Lorsqu'on observe des modifications du rapport $\frac{A}{G}$, c'est-à-dire une hypoalbuminémie + une hyperglobulinémie, on peut admettre qu'un facteur seul est primitif, l'autre étant secondaire, obéissant à un mécanisme de régulation, afin que soit maintenue dans sa valeur normale la pression onkotique que nous savons dépendre des protéides sanguins. Ce mécanisme de régulation serait neuro-hormonal.

Ainsi, au cours des affections hépatiques, s'il se produit une baisse du taux de l'albumine (due à l'affaiblissement fonctionnel du foie en tant que producteur d'albumine), secondairement apparaît une élévation de la concentration en globuline, phénomène compensateur qui tend à relever le chiffre de la pression onkotique à sa valeur normale. Les expériences de Janeway mettent bien en évidence le caractère compensateur de cette hyperglobulinémie : si à des cirrhotiques qui présentent une hypoalbulinémie marquée + une hyperglobulinémie, on fait des injections répétées d'albumine, on assiste à une hausse de l'albumine qui s'accompagne d'une baisse des globulines. Mais dans le cas d'une hépatite, on peut également envisager l'hypothèse d'une hyper-

globulinémie primitive, en rapport avec la formation d'anticorps.

Valeur du rapport $\frac{A}{G}$ dans l'étude clinique des ictères.

1° L'étude du rapport $\frac{A}{G}$ présente un grand intérêt puisqu'il révèle souvent des perturbations de l'équilibre protéidique longtemps avant l'apparition d'anomalies du chiffre global de protides sanguins. C'est à ce stade, caractérisé par une protidémie globale normale, qu'il nous paraît avoir le plus de valeur.

En effet, un rapport $\frac{A}{G}$ abaissé, inversé, accompagnant une hypoprotéidémie n'est pas spécifique d'un état hépatique, puisqu'il est également le fait d'autres états pathologiques, telles les néphrites, les néphroses, les états de dénutrition profonde.

De même, nombreuses sont les affections qui revendiquent une hyperglobulinémie caractéristique et constante; mais alors cette hyperglobulinémie est souvent associée à une hyperprotidémie non moins caractéristique (Kagan), c'est ce que l'on observe :

— dans les infections subaiguës et chroniques, où l'hyperglobulinémie est en rapport avec la formation d'anticorps, telles les suppurations pulmonaires pneumococciques;

— dans les infections tuberculeuses, sauf dans les derniers stades de la maladie où une mauvaise nutrition entraîne une hypoprotidémie;

— dans l'endocardite infectieuse subaiguë;

— dans les affections de la moelle osseuse, les leucémies à monocytes, les myélomes multiples, ce qui est encore en faveur de l'origine réticulo-endothéliale des globulines;

— dans les états de déshydratation.

2° Mais l'étude du rapport $\frac{A}{G}$ permet-elle de différencier les deux grandes classes des ictères, à savoir les ictères par

hépatite et les ictères par obstruction des voies biliaires, seule question qui intéresse le clinicien devant un ictère ?

Il peut orienter le diagnostic, mais ne l'affirme pas : au cours d'ictères infectieux, nous avons observé des rapports normaux (cas 4 du tableau II), des rapports subnormaux (cas 1, cas 5). Au cours d'ictères par rétention, nous avons constaté plusieurs fois des rapports abaissés.

Plus nette paraît être la valeur pronostique des modifications du rapport $\frac{A}{G}$. Nous avons trouvé le degré de l'abaissement du rapport sensiblement parallèle au degré de la déficience hépatique, et ce sont dans les cas d'hépatites graves mortelles que nous avons trouvé les plus gros déséquilibres (cas 6, 7), qui ont pu expliquer, au moins pour une grande part, l'apparition d'œdèmes au cours de l'évolution de la maladie.

Au cours d'un ictère par obstruction, le rapport $\frac{A}{G}$ permet d'apprécier le retentissement secondaire de la stase biliaire sur le foie.

En conclusion, nous dirons que, pour le diagnostic et le pronostic d'un ictère, l'étude du rapport $\frac{\text{albumine}}{\text{globuline}}$ apporte un appoint utile, mais non un argument catégorique, car :

a) non spécifique des états hépatiques en général, d'un type d'ictère en particulier;

b) souvent normal en dépit d'anomalies certaines que révèlent les analyses électrophorétiques.

B. — ANALYSE ELECTROPHORETIQUE DES PROTEINES SERIQUES DANS LES ICTERES

Ici apparaît tout l'intérêt que présentent les travaux de Gray et Barron sur l'analyse électrophorétique des protéines sériques dans les affections hépatiques, analyse qui a permis

de découvrir, dans des cas où le dosage chimique révélait des taux protidiques totaux ou séparés normaux, des anomalies caractéristiques et constantes dans les fractions constitutionnelles de ces protéines.

Les nouvelles méthodes d'investigation physico-chimique ont, en effet, considérablement approfondi nos connaissances sur les protéines du sang.

L'analyse électrophorétique y a contribué pour une large part.

Elle est basée sur le fait que, placées dans un champ électrique constant et dans un même solvant, des protéines différentes peuvent être distinguées par leur vitesse différente de migration. Dans l'appareil décrit par Tiselius, elles se séparent en plusieurs plusieurs couches, et à l'aide de dispositifs optiques on peut enregistrer ces couches différentes et obtenir des images photographiques spécifiques : ombres dentelées, dont chaque dentelure correspond à une fraction protéinique et donne, par sa surface, le pourcentage de la fraction par rapport à l'ensemble.

C'est ainsi que, dans le plasma humain, ont été révélées dans l'ordre de leur mobilité électrophorétique : l'albumine et trois fractions principales de globulines : l'α-globuline, la β-globuline et la γ-globuline, groupes non homogènes, que des perfectionnements dans l'enregistrement optique ont sous-divisé (2 α, 3 β, 2 γ) :

Ces différentes fractions sont dans les proportions suivantes :

Albumine : 62,5 % à 65 %;
α-globulines : 6,2 à 7 %;
β-globulines : 12 à 15,2 %;
γ-globulines : 13,1 à 15,7 %.

Le fibrinogène se situe entre les β-globulines et les γ-globulines.

C'est l'albumine qui a la mobilité la plus grande.

L'étude de chacune de ces fractions a été encore appro-

fondie par la méthode de fractionnement de Cohn, qui est basée sur l'analyse électrophorétique du plasma suivie de la précipitation des protéines en solution aqueuse à l'aide de l'alcool, effectuée à basse température; cette méthode permet d'obtenir six fractions principales et certaines sous-fractions :

Fraction I : elle contient le fibrinogène.
Fraction II : les γ-globulines qui constituent le support protéidique de la quasi-totalité des anticorps circulants.
Fraction III : plusieurs sous-fractions :
III_0 : β-globulines qui sont des complexes lipo-protéidiques (cholestérol, carotenoïdes, phosphatides) :
III_1 : isohémoagglutinines;
III_2 : prothrombine, enzyme, fibrinolytique.
Fraction IV : α-globulines.
Fraction V : la sérum-albumine.
Fraction VI : résidu du fractionnement, mélange d'albumine et d'α-globulines.

L'étude électrophorétique des sérums pathologiques est alors apparue fructueuse, révélant les modifications quantitatives de telle ou telle fraction.

Dans le domaine de la pathologie hépatique, Luetscher et Longworth étudièrent d'abord quelques cas de cirrhoses et trouvèrent une augmentation des β et γ-globulines, associée à une baisse de sérum-albumine. Ces recherches étaient faites à des étapes avancées de la maladie où les méthodes usuelles avaient déjà détecté des anomalies importantes de l'équilibre protéidique.

Aussi Gray et Barron s'appliquèrent-ils à étendre ces recherches aux différents types de maladies hépatiques, particulièrement dans leurs premiers stades où les protéides sanguins semblent être normaux d'après l'analyse chimique : ils étudièrent en particulier les hépatites.

Nous reproduisons ici les chiffres qu'ils ont trouvés dans 6 cas d'hépatites :

DIAGNOSTIC	DOSAGE CHIMIQUE G. par litre.			ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE Pourcentage				
					Globulines			
	Alb.	Gl.	A/G	Alb.	α	β	γ	A/G
1 Hépatite arsenicale ...	56,2	22,3	2,5	44,5	9	28	18,3	0,81
2 Ictère catarrhal	87,5	37,1	2,4	42,8	5,8	20,5	30,9	0,75
3 »	43,3	24,5	1,8	40,3	7,5	8,0	44,2	0,65
4 »	37,3	27,9	1,3	56,7	7,7	13,4	22,2	1,3
5 »	39,1	22,5	1,7	58.1	6	10,4	25,8	1,38
6 »	36	31,4	1,1	48,8	9,1	25,9	16,2	0,9

Ils constatent dans ces cas que l'analyse électrophorétique produit des déterminations d'albumine plus basses et de globulines plus hautes, et par conséquent un rapport $\frac{A}{G}$ plus bas que ceux obtenus par précipitation chimique (méthode de Campbell et Hama) :

— en effet, dans les 5 cas d'ictères catarrhaux, même lorsque le taux des globulines déterminé chimiquement est normal, l'analyse électrophorétique révèle une augmentation constante des γ-globulines, considérable dans certains cas (2,3); une augmentation fréquente des β-globulines qui peut être considérée comme valable lorsque le taux du cholestérol et des lipides correspondants qui migrent avec les β-globulines sont normaux, ce qui est le fait des cas 2 et 6.

Dans le cas 1 d'une hépatite arsenicale, à côté d'une augmentation modérée des γ-globulines, on note également un chiffre très élevé de β-globulines; mais, dans ce cas, ce chiffre peut s'expliquer en partie par une teneur du sang très élevée en cholestérol.

En regard de ces profondes modifications des fractions globuliniques, l'analyse électrophorétique révèle une diminution nette des taux de sérum-albumine.

Il en résulte une inversion du rapport $\frac{A}{G}$ qui s'oppose à la valeur normale du rapport déterminée par la méthode chimique.

En résumé :

— Augmentation constante des γ-globulines (en moyenne à 25,91);
— Augmentation fréquente des β-globulines;
— α-globulines normales;
— baisse de la sérum-albumine (moyenne : 48,5),

voilà le syndrome électrophorétique observé au cours des hépatites, opposé au syndrome protéidique déterminé chimiquement, qui est normal.

— Cette opposition est moins nette dans le cas des cirrhoses où les résultats chimiques se rapprochent davantage des résultats électrophorétiques, les anomalies étant les mêmes que pour les hépatites, mais à un degré plus marqué : par exemple, γ-globulines augmentées à 30 % en moyenne, β-globulines quelquefois; élévation de α-globulines quand celles des β et des γ sont insuffisantes à compenser la baisse de la sérum-albumine.

A ces résultats on peut opposer ceux qui sont trouvés dans 5 cas d'ictères par calcul du cholédoque et qui démontrent que l'ictère seul ne peut pas produire une altération significative des protéides sanguins (dans les 5 cas, ictère intense, foie en apparence normal à l'exploration chirurgicale).

DIAGNOSTIC	DOSAGE CHIMIQUE G. p. litre			ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE Pourcentages				
					Globulines			
	Alb.	Gl	A/G	Alb.	α	β	γ	A/G
Calcul du cholédoque....	54,7	37,8	1,4	50,3	8,6	25,8	15,8	1,01
» »	45,9	26	1,7	66,7	8,1	18,3	6,9	1,9
» »	39,1	29,9	1,3	60,7	7,6	14,8	15,9	1,5
» »	42,4	26,2	1,5	64,6	7,6	14,6	13,2	1,6
» »	—	—	—	53,6	9,1	19,6	17,6	1,15

Bien que la sérum-albumine soit légèrement abaissée dans 2 cas (50,3, 53,6), dans les 5 cas la γ-globuline est essentiellement normale et la valeur du rapport $\frac{A}{G}$, déterminée par électrophorèse, est superposable à celle du rapport chimique.

C'est seulement sur la β-globuline qu'il est intéressant de noter quelques modifications (Longworth les attribue à l'augmentation du cholestérol) mais elle est normale dans 2 cas, légèrement élevée dans 2 autres et augmentée à 25,8 dans 1 cas, bien que les teneurs en cholestérol soient très élevées dans les 5 cas. Ces quelques modifications (léger abaissement de la sérum-albumine dans 2 cas, légère augmentation de la β-globuline dans 3 cas) peuvent traduire la répercussion de l'ictère prolongé sur le foie.

En résumé, dans 5 cas d'ictère d'origine extrahépatique, les résultats de l'analyse électrophorétique :

sérum-albumine normale;
γ-globulines normales;
β-globulines légèrement augmentées, seule modification observée et dont la signification est mal définie étant donnée la migration du cholestérol, augmenté dans ces cas avec la β-globuline,

s'opposent en tous points à ceux obtenus dans les cas d'hépatite.

Ainsi la détermination de l'augmentation de la fraction γ des globulines associée à une baisse de la sérum-albumine, apparaît comme un signe biologique de grande valeur pour affirmer l'origine hépatique d'un ictère. Mais cette détermination par des méthodes de haute recherche scientifique risquait de n'en faire qu'un signe théorique, non applicable à l'usage clinique. De là vient le succès d'un certain nombre de procédés de séro-diagnostic, capables de révéler justement ces modifications qualitatives des protéines sériques dans les syndromes hépatiques.

Tels :

— la réaction de Takata-ara;
— la réaction à l'or colloïdal de Gray;
— la réaction de floculation céphaline-cholestérol, de Hanger;
— le test de turbidité au thymol qui va faire l'objet de notre étude.

C. — LE TEST DE TURBIDITE AU THYMOL DE MACLAGAN INDICATEUR D'UN DESEQUILIBRE PROTEIDIQUE

Au cours de ses travaux sur la réaction à l'or colloïdal, Maclagan découvrit qu'une solution de véronal, saturée par du thymol, avait la propriété de donner un trouble en présence de certains sérums, ceux qui provenaient de malades hépatiques et qui avaient également une réaction à l'or colloïdal positive. Le phénomène fut précisé par une étude expérimentale approfondie. Ainsi fut mise au point une méthode qui se révéla très vite intéressante par sa simplicité et les résultats qu'elle donna dans l'étude des affections hépatiques.

I. — Méthode.

L'intensité de la réaction varie avec le pH et la concentration ionique de la solution. Bien que ce soit pour les pH de 5 à 6 que la réaction soit le plus marquée, Maclagan adopte le pH de 7,8, car c'est dans cette zone que la différenciation entre sérums normaux et sérums pathologiques est la plus nette, ainsi qu'avec une concentration ionique basse.

a) Technique.

Réactif au thymol : pH = 7,8; μ = 0,01.

Dans un vase, on ajoute :

Véronal	1 g. 38.
Véronal sodique	1 g. 03.
Thymol	3 g. environ
Eau distillée	500 cm³.

On chauffe le mélange jusqu'au point d'ébullition.

On le retire du feu, on l'agite soigneusement et on laisse refroidir à la température de la pièce : en refroidissant, la solution devient trouble. Une petite quantité de thymol pulvérisé est alors ajoutée, qui entraîne immédiatement la formation de cristaux de thymol; la solution est agitée de nouveau, puis laissée à reposer pour la durée de la nuit. Le lendemain, des cristaux de thymol sont déposés au fond du vase. On filtre jusqu'à ce que la solution recueillie soit parfaitement limpide. Elle constitue le réactif, qui pourra être conservé indéfiniment. Cependant, comme la solubilité du thymol est nettement réduite au-dessous de 20°, par temps froid, la solution tend à devenir louche, ce qui la rend inutilisable. Aussi devra-t-on la maintenir à une température constante entre 20° à 25°. Nous avons eu de bons résultats en conservant nos flacons de réactifs dans une boîte métallique close garnie de coton cardé.

b) Réaction.

Dans un tube à essai, on ajoute 0,05 cm^3 de sérum à 3 cm^3 de réactif au thymol. Dans le cas d'une réaction positive, très vite se développe une turbidité caractéristique qui va en s'accentuant et dont on appréciera l'intensité au bout de 1/2 heure à 1 heure.

c) Lecture.

1. Dans la technique originale de Maclagan, le degré de turbidité est estimé par la comparaison visuelle avec l'échelle d'étalons de Kingsbury utilisée pour le dosage de l'albumine urinaire. Le résultat est exprimé en unités arbitraires égales à l'étalon correspondant divisé par 10.

Lorsque la turbidité dépasse celle de l'étalon correspondant à 100 mg., on dilue avec une quantité donnée de réactif. Le résultat est obtenu par la formule :

$$\text{unités} = \frac{\text{Chiffre donné par l'étalon} \times \text{coefficient de dilution}}{10}$$

2. Mais cette méthode est sujette aux critiques usuelles des méthodes visuelles :

— difficulté d'avoir une échelle étalon demeurant stable;

— difficulté d'apprécier exactement l'intensité d'un trouble lorsqu'on emploie des sérums ictériques, ce qui était notre fait.

Aussi avons-nous adopté la lecture à l'appareil de Vernes avec l'écran Wratten rouge foncé α, exprimant l'intensité du trouble par un chiffre de densité optique.

Tout d'abord, comme pour la réaction Vernes-résorcine, nous faisions 2 lectures : la première aussitôt le mélange fait, la deuxième 1 heure après. La différence entre les deux chiffres de densité optique nous donnait le degré photométrique de la réaction. Mais nos résultats étaient faussés, par le fait que, suivant le sérum, la réaction se déclenchait plus ou moins rapidement : pour certains, dès la première lecture, le chiffre de densité optique était élevé et se modifiait peu par la suite. Pour d'autres, au contraire, la réaction était plus lente à se produire.

Nous avons alors adopté le chiffre arbitraire de 160, correspondant à la moyenne des chiffres lus à la première lecture sur des sérums normaux.

La formule $Dp = X - 160$ donne la valeur de la réaction, X étant le chiffre lu au photomètre.

3. Une modification analogue a été apportée à la méthode de Maclagan par Schank et Hoagland, qui déterminent le degré de turbidité au spectrophotomètre, mais l'expriment ensuite en unités, d'après une courbe dressée à l'aide de suspensions étalons de sulfate de baryum ainsi préparée :

Dans un ballon jaugé de 100 cm³, mettre 3 cm³ d'une solution de chlorure de sodium, et compléter à 100 cm³ avec une solution d'acide sulfurique N/5. Opérer exactement à la température de 10°, température à laquelle la dimension des particules de sulfate de baryum précipitées est telle qu'il en résulte une suspension stable.

1 cm³ 65 de $SO^4 H^2 \frac{N}{5}$ + 1 cm³ 35 de solution de sulfate de baryum donne un trouble que l'on pose égal à 10 unités.

0 cm³ de $SO^4 H_2 \frac{N}{5}$ + 2 cm³ 7 de solution de sulfate de baryum donne un trouble de 20 unités.

Ces unités correspondent à celles de Maclagan.

4. Nous avons fait cette échelle d'étalons afin de pouvoir déterminer le nombre d'unités qui correspondent à nos résultats exprimés par le degré photométrique et pouvoir ainsi comparer nos résultats avec ceux de ces différents auteurs :

à Dp = 35 correspondent 5 unités;
à Dp = 55 correspondent 10 unités;
à Dp = 75 correspondent 15 unités;
à Dp = 95 correspondent 20 unités.

Mais nous continuons à donner notre préférence à la simple lecture photométrique.

II. — Résultats.

a) Sujets normaux :

Nous avons pratiqué le test de Maclagan chez 30 sujets en apparence sains (donneurs du Centre de transfusion de l'Hôpital Saint-André).

Nous avons trouvé des chiffres s'échelonnant entre 6 et 40, avec la fréquence suivante :

	Degré photométrique.						
	5 à 10	10 à 15	15 à 20	20 à 25	25 à 30	30 à 35	35 à 40
Nombre de sujets.....	4	8	5	5	3	3	2
%	13	27	17	17	10	10	6

La moyenne générale est 20, avec une standard-déviation :

$$SD = \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n - 1}} = 6.$$

Si nous prenons la moyenne générale + 3 fois la standard-déviation comme limite supérieure des variations normales, les limites normales vont de 5 à 38.

Dans notre groupe de sujets normaux, 2 dépassent la normale supérieure, mais pour l'un d'eux ce résultat est explicable par la découverte d'antécédents dysentériques.

Exprimés en unités définies par Maclagan ou Hoagland, ces résultats concordent avec ceux de ces auteurs :

60 % entre 0 et 2,5 unités;
30 % entre 2,5 et 5 unités;
10 % > 6 unités,

les valeurs normales allant de 0 à 5 unités.

b) Sujets non hépatiques, hospitalisés.

Nous avons recherché la réaction de turbidité au thymol sur une centaine de sérums provenant de malades hospitalisés sans maladie hépatique évidente et envoyés au laboratoire pour différents examens. Les résultats de notre investigation ont été les suivants :

Degré photométrique.	5 à 10	10 à 15	15 à 20	20 à 25	25 à 30	30 à 35	35 à 40	40 à 70
%	4	17	8	20	19	11	6	5

La moyenne générale est un peu plus élevée que chez les sujets normaux : 24,66.

11 % seulement ont des valeurs anormales, aucun ne dépasse 70.

(Et la moyenne générale des ictères par hépatite est de 87,5.)

c) Sujets hépatiques.

Le test pratiqué chez tous les ictériques nous a donné les résultats suivants :

TABLEAU III

	DIAGNOSTIC	RÉACTION AU THYMOL		RAPPORT $\frac{A}{G}$	SÉRUM GLOBULINES	SÉRUM ALBUMINE
		Degré photométrique	Unités Maclagan			
1	Ictère infectieux bénin.	+, 50	9	1,3	32,9	44,8
2	» » »	+, 50	9	1,6	24,5	40
3	» » »	+, 55	10	1,2	33,6	41,6
4	» » »	+, 80	16	1,6	31,9	50
5	» » »	+, 65	12	1	35,9	36,2
6	» » »	+, 85	17	1,7	25,2	44,8
7	» » »	+,130	28	1	34,8	34,5
8	» » »	+,140	30	0,9	37	33
9	» » »	—, 22	3	1,2	34,2	42
10	Ictère infectieux aggrav.	+,200	40	0,8	43,2	36,8
11	Hépatite ictérigène grave	+, 80	16	0,8	35,5	28,4
12	» » »	+, 75	15	0,7	41	29
13	Ictère au cours d'une cirrhose	+,115	22	0,9	38	37
14	Syndrome de Hanot	+, 63	12	1,2	33,2	41,3
15	Ictère lithiasique	—, 26	3	0,9	41	37
16	» »	—, 18	2	1,4	28	42
17	» »	—, 19	2	1,1	32,8	37,8
18	» »	—, 23	3	1,3	28,8	36,9
19	» »	—, 25	3	1	35,6	35,1
20	» »	+, 80	16	0,9	39	36
21	» »	+, 90	18	0,9	36	35
22	Néo du pancréas	—, 25	3	1,4	32	45
23	»	—, 12	1	1,5	31,8	48
24	»	±, 40	6	1	33,5	34

De l'examen du tableau III, on peut conclure :

1° Les ictères par hépatite nous donnent une réaction au thymol positive, dont l'intensité, de degré variable, s'étend de 50 à 200; pour 1 seul cependant, cas 9, la réaction au thymol est négative, mais ce résultat est en accord avec celui d'autres épreuves hépatiques qui ne mettent en évidence aucun signe de déficience hépatique.

2° Au contraire, dans les ictères par obstruction, nous trouvons une réaction au thymol négative, excepté dans 2 cas, où elle est franchement positive, cas 20 et 21. Mais dans ces 2 cas d'ictère par calcul de cholédoque, les signes d'hépatite nets sont mis en évidence :

— par d'autres examens de laboratoire;
— par l'histoire et l'évolution cliniques.

Nous avons également relevé une réaction légèrement positive dans un cas de néo du pancréas à un stade avancé (cas 24).

Ainsi, il existe une opposition très nette entre les résultats obtenus dans le cas des ictères d'origine hépatique d'une part et des ictères mécaniques, extrahépatiques, d'autre part.

Le nombre des cas que nous avons pu étudier est trop restreint pour nous permettre, par une étude statistique, d'affirmer catégoriquement un pourcentage donné. Il nous paraît intéressant de citer les chiffres donnés par Maclagan, avec lesquels les nôtres sont en accord et qui :

— sur 134 cas d'ictère par hépatite, obtient 91 % de réactions positives;
— sur 39 cas d'ictère par obstruction, trouve seulement 7,7 % de réactions positives;
— et 100 % de résultats positifs dans les cirrhoses.

Ces résultats sont, par ailleurs, confirmés par ceux de Hoagland, qui signale à peu près le même pourcentage.

3° L'intensité de la réaction au thymol est-elle proportionnelle à la gravité de l'atteinte hépatique ? Dans une certaine mesure, l'intensité de la réaction est parallèle aux autres signes de déficience hépatique. Les réactions les plus faibles sont trouvées au décours d'ictères infectieux bénins. Au contraire, un ictère infectieux aggravé donne une réaction très fortement positive. Pour 2 cas d'hépatite (cas 11 et 12), on note cependant une certaine discordance entre l'intensité moyenne de la réaction au thymol et l'importance de la déchéance hépatique, révélée par les signes cliniques et les autres signes biologiques; mais, ainsi que nous le verrons plus loin, cette discordance trouve son explication dans un taux anormalement bas de la lipémie.

Dans la majorité des cas, nous pouvons dire que l'intensité de la réaction au thymol reflète le degré de la déficience hépatique.

C'est ainsi que des réactions au thymol, répétées, permettent de suivre l'évolution de l'ictère. Dans les cas d'ictères infectieux bénins, l'intensité maximum de la réaction s'est révélée à l'acmé de l'ictère, intensité qui décroît ensuite parallèlement à la régression des symptômes cliniques. Elle reste cependant encore positive alors que la bilirubinémie est revenue à son taux normal.

Au cours d'un ictère infectieux bénin, nous avons pu noter l'évolution suivante :

	Bilirubine	Test au thymol Dp.
	—	—
29 septembre 1946	120 mg.	140
2 octobre 1946	35 mg.	105
9 octobre 1946	8 mg.	70
2 novembre 1946	8 mg.	27

Nous constatons l'évolution contraire en accord avec l'évolution clinique défavorable, au cours d'une hépatite ictérigène grave :

Le 7 octobre	280 mg.	50
Le 27 octobre	63 mg.	80

4° Il existe une certaine relation entre le taux des globulines et la valeur du rapport $\frac{A}{G}$ d'une part, et l'intensité de la réaction au thymol d'autre part.

Aux tests au thymol positifs correspond, en effet, un taux élevé de globulines — au-dessus de 32 g. — alors qu'à un test négatif correspond un chiffre normal de globulines.

Cependant :

— dans 3 cas de réactions positives, le taux des globulines est normal (cas 2, 4 et 6 du tableau III);

— un taux de globuline augmenté est de même fréquemment noté en regard d'un test négatif (cas 15, 17, 19);

— aux taux les plus élevés des globulines ne correspondent pas toujours les réactions au thymol les plus intenses (cas 12).

Ces faits s'expliquent si l'on admet que la réaction de turbidité au thymol ne dépend pas seulement d'une anomalie quantitative des globulines, mais d'une anomalie qualitative dont l'existence au cours des hépatites nous a été prouvée par l'analyse électrophorétique.

III. — Mécanisme du test de turbidité au thymol.

Maclagan admet que c'est la γ-globuline qui est responsable de cette réaction, de même qu'elle est responsable de réactions analogues, telles la réaction à l'or colloïdal, la réaction de floculation à la céphaline. Ayant étudié la composition du précipité formé, il trouve que c'est un complexe protéino-thymol-phospho-lipoïdique, dont les constituants sont dans les proportions suivantes :

Protéines, 37 %;
Thymol, 32 %;
Cholestérol, 16 %;
Lécithine, 8 %.

La fraction protéinique qui entre en jeu dans la réaction est très vraisemblablement une globuline, car le précipité redissout dans une solution de soude $\frac{N}{100}$ reprécipite par adjonction de sulfate d'ammonium saturé au 1/3; d'autre part, la quantité importante de cholestérol et de lécithine contenue dans le précipité fait soupçonner l'importance de leur rôle dans la réaction.

Ceci est confirmé de façon indiscutable par les expériences rapportées par Hanger et Recant :

Première expérience : *Effet de la délipidation du sérum.*

— Des sérums d'hépatite donnant une réaction au thymol positive sont délipidés par le froid en présence d'éther (méthode de Mac Farlane). La réaction au thymol devient négative ou très peu positive après l'extraction des lipides par l'éther.

— Le refroidissement seul n'a pas d'effet.

— l'addition à parties égales de sérum normal au sérum d'hépatite n'a pas d'action sur l'intensité de la réaction au thymol.

— L'addition de sérum normal au sérum d'hépatite délipidé restaure à la réaction au thymol, devenue négative, son intensité première.

(L'addition d'un sérum normal délipidé, ajouté à un sérum délipidé d'hépatite est sans effet.)

— L'addition de suspension aqueuse de céphaline, de lécithine, de cholestérol, des résidus de l'extraction des lipides de sang normal ou de sang d'hépatite à du sérum d'hépatite délipidé, a le même pouvoir.

— les lipides seuls ne donnent pas de réaction au thymol.

De ces faits nous pouvons conclure que la présence de lipides, de quelque origine qu'ils soient, est nécessaire à la réaction au thymol, mais qu'elle n'est pas suffisante. Il ne s'agit pas de lipides anormaux.

Deuxième expérience : *Le test au thymol est pratiqué sur des fractions protéidiques, séparées par électrophorèse.*

— A partir de sérums normaux et anormaux, des fractions d'albumine et de globulines sont isolées par électrophorèse.

— Le test au thymol est négatif sur l'albumine et sur la γ-globuline des sérums anormaux comme des sérums normaux. L'addition de lipides ou de résidus de sérums extraits par l'éther ne réussit pas à provoquer une réaction positive.

— Donc, la γ-globuline est insuffisante à provoquer la réaction positive, même additionnée de lipides.

Troisième expérience : *Le test au thymol est pratiqué sur les fractions sériques obtenues par ultracentrifugation.*

— Un sérum d'hépatite, un sérum d'hépatite délipidé, un sérum normal, sont centrifugés à 48.000 tours pendant 3 heures. Chaque sérum est alors partagé en trois couches : une couche claire surnageante (albumine), une couche

moyenne (riche en globulines + lipides), une couche mince.

— La réaction au thymol n'est positive que sur la deuxième couche du sérum d'hépatite non délipidé.

— Un test au thymol positif résulte donc bien de l'existence d'une modification portant sur la fraction des globulines, sous l'effet d'une affection hépatique, mais cette modification n'implique pas uniquement la γ-globuline, comme le prouve la deuxième expérience.

Le fait que les lipides sont indispensables à la réaction peut être rapproché de celui que rapportait Bidermann en 1919.

Il montrait qu'une solution aqueuse de thymol a la propriété de coaguler les protéines protoplasmiques, mais que ce réactif ne coagule pas les solutions de protéines pures, ni les simples mélanges de protéines et de lipides. Il posait que le thymol, très soluble dans les lipides, se concentre dans des « complexes » lipides-protéines (les cénapses lipido-protéidiques n'étaient pas encore étudiées) et agit ainsi plus directement sur les protéines de ces complexes que sur les protéines libres en solution aqueuse.

Sans doute est-ce un phénomène analogue qui explique les faits décrits plus haut : le thymol agirait sur des cénapses lipido-protidiques. On sait que les globulines sont plus facilement délipidées que les albumines (inégale stabilité des diverses cénapses), ce qui explique la possibilité de rendre négative une réaction au thymol primitivement positive.

Nous savons que ce sont les β-globulines qui ont la teneur en lipides la plus élevée.

Nous connaissons aussi la propriété qu'ont celles-ci de capter les lipides ajoutés au sérum délipidé (Blix), formant ainsi des cénapses dites « artificielles », en opposition aux cénapses « naturelles », qui ne peuvent pas se reproduire par simple mélange (Machebœuf). C'est pourquoi la simple adjonction de lipides suffit à annuler les effets de la délipidation sur la réaction au thymol.

Aussi pouvons-nous admettre qu'à l'origine d'un test de

turbidité au thymol positif existe non seulement une production anormale de γ-globulines, mais aussi de β-globulines, qui apportent avec elles les lipides nécessaires à la réaction. Ces explications ne sont que des hypothèses et le test au thymol demeure pour une certaine part un test empirique.

Conséquences de ces faits.

1. Ils nous permettent de mieux comprendre les résultats que nous donnait le test au thymol lors d'une hépatite grave dont nous avons déjà signalé le caractère contradictoire.

Il s'agissait d'une hépatite grave pour laquelle nous obtenions un test au thymol positif, mais moins intense que ne pouvait le faire supposer l'état de la malade. Une aggravation clinique rapide et très importante était notée dans les jours suivants. Les examens biologiques étaient répétés, et bien que le même chiffre de globulines soit trouvé, on constatait avec étonnement un test au thymol négatif (35). Il est possible d'expliquer cette contradiction apparente des résultats par les données des dosages du cholestérol et des lipides. Déjà très abaissé (0,90) lors d'un premier examen contemporain du premier test, le cholestérol tombait à un chiffre extrêmement bas (0,32), s'accompagnant d'une disparition presque totale des lipides (0,48 g. ‰). Il s'agissait donc d'une véritable délipidation du sérum qui nous plaçait dans les conditions de l'expérience décrite plus haut.

Ainsi, un taux très abaissé de cholestérol et de lipides risque de diminuer l'intensité du test de turbidité au thymol.

Là se trouve sans doute la raison de la divergence signalée par plusieurs auteurs entre les résultats donnés par le test au thymol et ceux obtenus par la réaction à l'or colloïdal ou la réaction de floculation à la céphaline-cholestérol dont l'intensité semblait suivre plus fidèlement le degré de déchéance hépatique dans les cas de cirrhoses graves et d'atrophies subaiguës du foie (Maclagan, Watson) (au cours desquelles la lipémie est fréquemment très abaissée).

2. Puisqu'une anomalie quantitative et qualitative des globulines est responsable d'une réaction au thymol positive, il était intéressant de pratiquer ce test au cours d'états infectieux où l'on note une hyperglobulinémie et où nous savons que la formation d'anticorps entraîne une augmentation élective de certaines fractions de globulines, en particulier des γ-globulines, dans la majorité des cas, ainsi qu'en témoignent les diagrammes électrophorétiques et les recherches immunologiques.

Aussi avons-nous recherché le test au thymol chez quelques malades. Nous avons obtenu :

Rhumatisme articulaire aigu	+	Dp = 60
Rhumatisme articulaire aigu	—	Dp = 16
Ostéomyélite	—	Dp = 35
Fièvre typhoïde	+	Dp = 45
Fièvre typhoïde	—	Dp = 35
Fièvre de Malte	+	Dp = 65
Abcès pulmonaire à pneumocoques (2e mois)	+	Dp = 45
Pneumonie (convalescence)	+	Dp = 50
Pneumonie (convalescence)	—	Dp = 35
Tuberculose pulmonaire, 4 cas	—,	Dp = 20, 11, 16, 20
Syphilis, 4 cas dont 3—, Dp = 23, 26, 18 et 1 +, Dp = 70.		

Sur l'ensemble de ces quelques cas, nous notons plusieurs réactions positives : 1 sur 2 pour le cas de rhumatisme articulaire aigu; 1 dans un cas de fièvre de Malte; 2 au cours d'affections pneumococciques; mais dans tous les cas l'intensité de la réaction est faible, ne dépasse pas 70.

On peut admettre qu'elles relèvent d'une augmentation d'une certaine fraction de globulines. Mais il est à noter que l'atteinte hépatique est fréquente au cours de certaines maladies infectieuses, telle la fièvre de Malte dont l'hépatite est classique, la fièvre typhoïde, une spécificité en évolution, atteinte dont une réaction au thymol positive peut être révélatrice. Dans ces cas, il est vraisemblable qu'une réaction franchement positive traduit un certain degré de dommage hépatique. C'est ainsi qu'il peut être intéressant de pratiquer systématiquement le test au thymol au cours de toutes les maladies infectieuses susceptibles de léser le foie.

En résumé : Réaction qui semble dépendre des modifications qualitatives des globulines sériques, que l'électrophorèse a permis de mettre en évidence au cours des hépatites et des cirrhoses, le *test au thymol*, séduisant par sa technique facile et rapide, nous a paru être un indicateur fidèle d'un dysfonctionnement hépatique qui apporte une contribution de valeur au diagnostic d'un ictère et à son pronostic.

CHAPITRE III

LA CHOLINESTERASE SERIQUE DANS LES ICTERES

La cholinestérase sérique est un ferment qui peut hydrolyser les esters de la choline, et plus spécialement l'acétylcholine, pour régénérer la choline et libérer l'acide acétique. Chimiquement, la cholinestérase se comporte comme un protéide du groupe de la sérum-albumine et trouve comme elle, d'après certains auteurs, son origine dans le foie. Il était naturel alors d'essayer d'utiliser son dosage comme procédé d'exploration fonctionnelle du foie.

Généralités.

On sait que ce ferment, découvert en 1926 par Lævi et Navratil, joue un rôle prépondérant dans les processus de médiation cholinergique aux côtés de l'acétylcholine, dont l'importance fondamentale est admise en qualité de médiateur chimique, non seulement dans le système nerveux autonome (parasympathique et sympathique préganglionnaire), mais encore dans le système nerveux central et les synapses neuro-musculaires (Lævi, Dale, Feldberg, Kibjaloeff, Nachmansohn). A la suite de ces résultats physiologiques remarquables, il était logique d'attendre un corollaire clinique, riche d'applications pathogéniques et physio-pathologiques. Mais ici les espoirs ont été en grande partie déçus. Les résultats obtenus dans l'étude des maladies nerveuses et neuro-musculaires (myopathies diverses, maladie de Parkinson, polynévrites) ont été le plus souvent contradictoires, et il est assez paradoxal de constater que c'est en dehors des maladies du système nerveux que l'étude de la cholinestérase du sérum s'est révélée la plus féconde : c'est le cas des maladies hépatiques au cours desquelles Autopol, Tuchman, Shifrin (1937), puis Mac Ardle en 1940, ont, les premiers, signalé

son abaissement considérable coexistant avec une intégrité à peu près parfaite du fonctionnement du système nerveux, contraste que Kaswin explique par l'hypothèse de la « disproportion de masse ». Dans tous les cas, même lorsqu'elle est très diminuée dans son activité, la cholinestérase sérique est en quantité plus que suffisante pour détruire instantanément les minimes quantités d'acétylcholine libérées par les processus nerveux et musculaires, sans que ses modifications puissent avoir un quelconque retentissement sur leur fonctionnement.

Mais c'est surtout à la lueur des travaux des biochimistes canadiens de l'école de Toronto (Mendel, Mundell et Rudney) que ces faits contradictoires peuvent s'éclairer. Ces auteurs posent la question de la pluralité des cholinestérases : ils établissent l'existence d'une cholinestérase spécifique, agissant exclusivement sur les esthers de la choline, et d'une cholinestérase non spécifique, capable d'hydrolyser non seulement les esters choliniques, mais aussi les esters non choliniques, tels que la tripropionine, la tributyrine, et pour laquelle ils proposent le nom de pseudo-cholinestérase. Alors que le système nerveux serait riche surtout en cholinestérase vraie, le sérum contiendrait presque exclusivement de la pseudo-cholinestérase qui n'a peut-être que peu d'importance dans les phénomènes de médiation cholinergique. C'est elle que l'on dose dans le sérum; son interprétation en tant que test d'hyperfonctionnement ou de déficience du système cholinergique devient discutable. Au contraire, les résultats qu'a donnés son étude dans les affections hépatiques permettent de penser qu'elle est beaucoup plus sous la dépendance du foie que des éléments du tissu nerveux, et c'est dans ce domaine que son dosage garde toute sa valeur au point de vue du diagnostic et du pronostic, ainsi que nous essaierons de le démontrer dans ce chapitre de notre travail.

Technique de dosage.

Plusieurs méthodes permettent de doser la cholinestérase du sérum. On peut les classer en deux groupes :

1° Les méthodes manométriques, dont le type est la méthode d'Ammon, dans laquelle l'acide acétique, libéré par l'hydrolyse acétylcholinique, réagit sur du bicarbonate de Na, libérant ainsi une certaine quantité de CO_2, qu'on mesure par manométrie à l'aide de l'appareil de Warburg : l'unité de cholinestérase est représentée par le volume en millimètres cubes de CO^2 libéré en 1 heure. La moyenne des résultats donnés par plusieurs auteurs, oscille entre 36 et 105 unités CO_2;

2° Les méthodes chimiques (Stedman et White) consistant en une titration directe de l'acidité apparue au cours de l'hydrolyse fermentaire d'une solution d'acétylcholine à 2 p. 1.000, en présence d'indicateurs convenablement choisis : rouge de crésol, bleu de bromothymol.

Ces méthodes chimiques, simples, rapides, s'adaptent mieux à la pratique clinique courante, et c'est d'après leur principe que nous avons pratiqué nos dosages (technique de Vincent Segonzac et de Prat, modifiée par le Docteur Servantie, dont les détails seront publiés ultérieurement).

L'activité cholinestérasique du sérum est exprimée par le nombre de centimètres cubes de Na OH, N/100, qui ont été nécessaires pour neutraliser l'acide acétique libéré pendant la durée du dosage (20').

La cholinestérase chez les sujets normaux.

La cholinestérase est susceptible de variations assez grandes d'un individu à l'autre. Mais chez un même sujet, le taux de la cholinestérase présente une stabilité remarquable. Non seulement au cours des 24 heures, comme l'ont constaté Ammon et Voss (1934), mais également pendant plusieurs semaines (Kaswin). On peut donc dire qu'il existe un niveau normal de la cholinestérase.

A l'état normal, le jeûne, la digestion, le sexe, la menstruation, sont sans influence.

L'activité cholinestérasique du sérum humain normal se situe, d'après D. Vincent et Mlle de Prat, entre 4 et 6. Fies-

singer, Glomaud et Carlotti lui assignent des limites plus étroites : entre 4,2 et 5,2, chiffres que nos résultats ont également confirmés.

Au cours des affections hépatiques (spécialement des ictères).

Fiessinger, Glomaud et Carlotti ont fait une étude très approfondie de la cholinestérase au cours des cirrhoses et ont précisé la valeur de ce dosage comme test de gravité de l'insuffisance hépatique, trouvant son abaissement proportionnel à cette gravité, modéré dans les cirrhoses bien compensées, plus accentué dans les déficiences intenses avec une chute massive (au-dessous de 1) au moment où apparaît la grande insuffisance hépatique terminale.

C'est spécialement dans les ictères que nous avons étudié les variations de la cholinestérase sérique, recherchant dans quelle mesure ce dosage pouvait contribuer à poser un diagnostic et porter un pronostic. Nos résultats, qui sont consignés dans le tableau suivant, nous ont permis de conclure.

TABLEAU IV

	DIAGNOSTIC	BILIRUBINE mg 0/00	CHOLINESTERASE	PROTIDES		
				ALBUMINE	GLOBULINES	TOTAUX
1	Ictère infectieux bénin.	45	1,70	41,6	33,6	75,2
2	»	90	1,20	33,1	37,6	70,7
3	»	72	2,20	34,5	34,8	69,3
4	»	45	2,40	44,8	25,2	70
5	»	120	2,20	36,2	35,9	72,1
6	»	90	2,90	49,28	32,4	81,68
7	Hépatite grave	180	0,80	29	41	70
8	»	280	2,25	35,3	35,8	71,1
9	Ictère cirrhotique	130	2,2	37	38	75
10	Cirrhose biliaire	80	3,5	40,3	34,2	74,5
11	Calcul du cholédoque ..	80	3,3	39,9	28,8	68,7
12	» ..	110	3,65	37,8	32,8	70,6
13	» ..	400	3,1	45	32	77
14	» ...	288	3,3	42,5	28,2	70,7
15	» ..	55	2,2	36	39	75
16	Néo pancréas	87	3	42,7	31,8	74,5
17	»	80	1,03	34	33,5	67,5

1° Il apparaît une opposition assez nette entre les résultats trouvés dans les ictères par hépatite et ceux obtenus dans les ictères d'origine extrahépatique. Dans le premier groupe, nous trouvons, en effet, des taux de cholinestérase abaissés au-dessous de 3, qui traduisent l'atteinte du parenchyme hépatique, tandis que dans le deuxième groupe, bien qu'un peu abaissée, la cholinesthérase ne tombe pas au-dessous de 3.

2° La baisse du taux de la cholinestérase est d'autant plus prononcée que l'atteinte du parenchyme hépatique est plus grave. Le chiffre le plus bas que nous ayons trouvé, de 0,80 (cas 7), nous est donné par une hépatite ictérigène maligne.

On peut donc, par le dosage de la cholinestérase, juger de la gravité de la lésion.

3° 2 cas d'ictère par rétention cependant nous donnent un taux de cholinestérase fortement abaissé, qui traduit le retentissement de la stase biliaire sur les cellules hépatiques, comme le confirme l'observation clinique : accentuation de l'ictère par hépatite dans les suites opératoires de l'un (cas 15); néo du pancréas avancé pour l'autre cas (cas 17), d'où valeur du dosage de la cholinestérase pour le chirurgien, qui, avant l'intervention, peut apprécier la valeur fonctionnelle du foie et juger de la capacité de résistance du malade.

4° Enfin, les dosages répétés en série apparaissent être d'un très grand intérêt, car ils permettent de suivre l'évolution de la maladie et donnent une base très sûre à l'établissement du pronostic.

L'activité cholinestérasique suit, en effet, l'évolution clinique de l'ictère. Au cours des ictères infectieux bénins, on assiste à l'élévation remarquablement rapide du taux de la cholinestérase au fur et à mesure de la disparition de l'ictère et de la reprise d'un fonctionnement hépatique normal. C'est ainsi qu'au cours d'un ictère catarrhal, deux examens pratiqués à 8 jours d'intervalle nous donnaient les résultats suivants :

	Bilirubine	Cholinesterase
5 septembre	40 mg	1,70
16 septembre	15 mg	3,48

tandis qu'une hépatite évoluant vers l'ictère grave nous donnait une évolution inverse :

7 octobre	280 mg	2,25
25 octobre	65 mg	1,2

ce qui constituait un élément de gravité pour le pronostic.

En dehors des affections hépatiques.

L'abaissement de la cholinestérase n'est cependant pas l'apanage unique des affections hépatiques. Nombreux sont, en effet, les états pathologiques au cours desquels on constate une diminution de l'acidité cholinestérasique :

— au cours des états anémiques (Antopol, Mogens-Faber);
— au cours des cancers (Milhorat, Mogens-Faber);
— au cours des infections chroniques (Milhorat, Dikshit et Mahal);
— au cours des phtisies (Vahlquist, Cattaneo, Scoz);
— au cours des insuffisances cardiaques dans les cas graves avec œdèmes et ascite (Mogens-Faber);
— au cours des néphrites urémigènes (Milhorat, Mogens-Faber);
— au cours des cachexies (Milhorat);
— au cours des pneumonies (Mogens-Faber).

C'est au cours du cancer de l'estomac, de la leucémie myéloïde, de la pneumonie, de l'insuffisance cardiaque que Fiessinger, Glomaud et Carlotti ont trouvé les chiffres les plus abaissés, tous cas au cours desquels l'atteinte de l'état général est toujours profonde, mais où on ne peut affirmer l'intégrité fonctionnelle du foie; si bien qu'il est impossible d'attribuer l'abaissement de la cholinestérase à une cause exclusive.

Cholinestérase et sels biliaires.

Sobokta et Aitopol ont montré que les sels biliaires ont un effet inhibiteur considérable sur la cholinestérase.

Ce fait pourrait expliquer l'abaissement de l'activité cholinestérasique observée au cours des ictères infectieux bénins où l'on sait qu'il existe toujours une cholalémie élevée (Chabrol); mais une même cholalémie se rencontre au cours des ictères par obstruction lors desquels l'activité cholinestérasique semble peu modifiée. Et c'est dans les cas où, au contraire, la cholalémie est basse dans les hépatites graves, les cirrhoses décompensées, que l'on constate les taux les plus abaissés de la cholinestérase.

Aussi il est probable que ce mécanisme n'a pas une grande importance et que les sels biliaires retenus n'influencent que bien faiblement la cholinestérase du sérum ictérique.

La cholinestérase et la protidémie.

Il semble que l'abaissement de la cholinestérase du sérum est en relation avec une chute de la sérum-albumine notée dans les cirrhoses et dans les hépatites, comme nous l'avons montré dans un chapitre précédent. Les constatations de Mogens-Faber plaident en ce sens : cet auteur rapporte, en effet, plusieurs courbes d'études comparatives, du taux de la sérum-albumine et de la cholinestérase obtenues par des dosages isolés chez une série de malades présentant une hypoalbuminémie de degré variable, et par des dosages répétés chez un même sujet au cours de l'évolution de sa maladie, et il montre nettement la corrélation étroite qui existe entre ces deux facteurs dont l'abaissement se produit à peu près de la même façon et dans des proportions équivalentes; il ne constate de divergence notable que dans le cas où les variations de la sérum-albumine sont rapides, soit dans le sens d'une augmentation, soit dans le sens d'une diminution : la cholinestérase semble s'attarder.

Nous avons nous-même pu constater cette corrélation entre les chiffres de la cholinestérase relevés dans les différents cas d'ictères que nous avons étudiés et les chiffres correspondants de sérum-albumine, ainsi que le montre l'étude du tableau IV. Nous pouvons y noter un parallélisme non absolu mais certain entre les deux résultats.

Plusieurs discordances notables peuvent être observées : pour les cas 1, 4 et 6, par exemple, où un chiffre normal de sérum-albumine n'explique pas la valeur assez fortement abaissée de la cholinestérase. Mais dans ces trois cas l'explication donnée par Mogens-Faber peut être valable, car il s'agit d'ictères infectieux bénins, de malades en voie d'amélioration très nette, qui se trouvent au décours de leur ictère, ainsi que peut en faire foi leur taux relativement peu élevé de bilirubine, et chez lesquels il est possible que le taux de la sérum-albumine se relève plus rapidement que celui de la cholinestérase.

Quelle est la nature de la relation qui existe entre la cholinestérase et la sérum-albumine ? Le fait que la cholinestérase est précipitée par le sulfate d'ammonium avec la fraction albumine pouvait faire émettre l'hypothèse d'une liaison existant entre la sérum-albumine et la cholinestérase, à l'instar de nombreuses substances, tels les pigments biliaires, quoi qu'il s'agisse là d'une liaison toute différente, puisque la quantité de pigments biliaires liés à l'albumine dépend de la quantité de pigments présents dans le sérum et non de l'albumine. Mais cette hypothèse ne résiste pas aux expériences de cataphorèse de Vahlquist qui montrent que la cholinestérase se déplace indépendamment de la sérum-albumine et des globulines.

Il existe donc une simple corrélation entre les deux substances, corrélation qui trouve une explication plausible dans l'hypothèse qu'elles sont sécrétées probablement dans un rapport sensiblement constant à partir de la même cellule, la cellule hépatique. Une altération fonctionnelle de celle-ci crée le double déficit (sans que, pour cette raison, il soit

possible d'en conclure la moindre connexion de l'une avec l'autre).

En conclusion :

Nous dirons que, dans l'étude des ictères, la valeur de la cholinestérase constitue :

1° un élément de diagnostic intéressant dans la différenciation de l'origine intra ou extrahépatique d'un ictère;

2° un élément de pronostic important, réflecteur fidèle du comportement hépatique :

— utile pour suivre l'évolution d'une hépatite;

— utile pour juger des conditions opératoires devant un ictère par obstruction.

CHAPITRE IV

ETUDE DE LA PROTHROMBINE DANS LES ICTERES

L'origine hépatique de la prothrombine, substance qui joue un rôle prépondérant dans la coagulation sanguine, fait de son étude, au cours des ictères, une épreuve fonctionnelle du foie très intéressante.

Généralités.

La prothrombine, normalement, présente dans le sang circulant, en présence d'ions calcium et d'un activateur tissulaire ou plasmatique, la thromboplastine, forme de la thrombine, laquelle transforme le fibrinogène en fibrine insoluble. Tel est le mécanisme schématique de la coagulation sanguine.

De nature diastasique, la prothrombine appartient à la fraction globulinique des protides plasmatiques. La méthode de fractionnement de Cohn montre qu'elle est concentrée dans la fraction III_2.

Les travaux de Quick mettent en évidence que la prothrombine est un complexe formé de deux composants A et B; le composant A, labile, disparaît dans le sang conservé, tandis que le composant B décroît chez l'animal traité par la dicoumarine ou privé de vitamine K. Apparemment, ces deux composants se combinent par l'intermédiaire du calcium. Il est nettement établi que, dans tous les cas d'hypoprothrombinémie observés en clinique, c'est le facteur B qui est seul intéressé. La diminution du facteur A n'a jamais été observée *in vivo*.

L'origine hépatique de la prothrombine fut démontrée par les expériences de Lord, Andrus et Moor, qui, en provoquant expérimentalement des altérations traumatiques et toxiques du foie, déterminèrent une chute très importante du taux de la prothrombine sanguine. Les travaux de Warner, de Warren et de nombreux expérimentateurs confirmèrent ces résultats.

La vitamine K est le stimulant indispensable du foie dans sa fonction prothrombinogénétique, mais le mécanisme de son action n'est pas encore parfaitement défini. On ne retrouve ni vitamine K, ni aucun de ses dérivés connus dans la prothrombine. La vitamine K est une substance lipoïdique, apportée par l'alimentation, mais aussi synthétisée par la flore bactérienne intestinale. Elle n'est absorbée, au niveau de la muqueuse intestinale, qu'en présence de la bile, dont tous les troubles sécrétoires détermineront par conséquent une avitaminose dont nous retrouverons les conséquences plus loin.

La détermination quantitative de la prothrombine.

La prothombine ne peut être reconnue et appréciée que par son activité physiologique, c'est-à-dire par la vitesse avec laquelle elle coagule du fibrinogène après avoir été convertie en thrombine. La méthode de dosage de Quick est basée sur ce principe. C'est elle qui est employée dans le laboratoire de biologie de l'Hôpital Saint-André, et selon laquelle tous nos dosages ont été pratiqués (Salles).

Le plasma oxalaté (1 partie d'oxalate de soude $\frac{N}{10}$ pour 9 parties de sang) est mélangé avec de la thromboplastine (sous forme de solution saline d'extrait de cerveau de lapin déshydraté par l'acétone), puis recalcifié par du chlorure de calcium; on mesure le temps de coagulation.

— Lorsque la thromboplastine et le calcium sont en quantité constante, la quantité de thrombine formée est fonction de la concentration en prothrombine du plasma, que l'on appré-

cie par le temps de coagulation du mélange, qui lui est inversement proportionnel.

On mesure ainsi « le temps de prothrombine » d'un plasma normal, 15'' en moyenne, que l'on considère comme correspondant au taux de 100 %. Diverses dilutions de ce même plasma permettent alors d'établir « une courbe d'étalonnage », en portant en abscisse les chiffres de pourcentage et en ordonnée les temps de prothrombine correspondants. Pour déterminer ensuite le taux d'un plasma quelconque, il suffit de porter en ordonnée le temps qu'il donne et de lire en abscisse le taux correspondant.

Sa valeur normale.

Le taux physiologique de la prothrombine est très stable. Les valeurs situées entre 90 % et 110 % sont pratiquement considérées comme normales.

Ses variations pathologiques.

Elles sont fréquentes.

A côté des cas d'hypoprothrombinémie idiopathique constitutionnelle, trois grands types d'hypoprothrombinémie acquise sont maintenant bien connus :

— l'hypoprothrombinémie par déficience en vitamine K, dont le type est celle du nouveau-né;

— l'hypoprothrombinémie par absorption déficiente de vitamine K par l'intestin lorsqu'il existe une absence de sels biliaires, un syndrome diarrhéique sévère;

— l'hypoprothrombinémie par déficience de la fonction prothrombinogénétique du foie.

Le taux de prothrombine dans les ictères.

Les variations du taux de prothrombine observées au cours des ictères peuvent relever de ces deux derniers mécanismes, ainsi que nous allons le montrer.

Dans presque tous les cas, de quelque origine que soit l'ictère, on trouve un taux de prothrombine abaissé. Voici nos résultats personnels que nous divisons en deux groupes :

I. Ictères infectieux bénins	80 %
» » »	70 %
» » »	55 %
» » »	60 %
Hépatites ictérigènes graves	20 %
» » »	30 %
» » »	10 %
» » »	20 %
Cirrhose biliaire	80 %
Ictère chez un cirrhotique	20 %
II. Ictères par rétention :	
Calcul du cholédoque	100 %
» »	100 %
» »	60 %
» »	45 %
» »	40 %
» »	60 %
Néo du pancréas	55 %
» »	50 %

Dans le premier groupe :

— Nous voyons que dans les cas d'ictère infectieux bénin, le taux de la prothrombine est peu modifié; les chiffres de 70, 80 % sont subnormaux. Un seul donne un abaissement plus marqué : 55 %.

— Dans un cas de cirrhose biliaire, nous trouvons un chiffre presque normal en concordance avec le résultat d'autres épreuves d'exploration fonctionnelle qui montraient toutes une capacité fonctionnelle encore large.

— Par contre, trois hépatites graves nous donnent un taux de prothrombine très abaissé, atteignant et dépassant le taux critique de 20 %, au-dessous duquel nous savons que les manifestations hémorragiques font leur apparition.

Au cours d'une poussée ictéro-œdémateuse chez une cirrhotique, nous trouvons également un chiffre abaissé à 20 %.

Dans ces cas, la constatation d'un chiffre très abaissé laisse entrevoir une évolution défavorable.

Dans le deuxième groupe :

Il s'agit d'ictère par rétention.

Deux cas donnent un temps de prothrombine normal (dosage fait dans les premiers jours de l'ictère) à 100 %. Pour tous les autres, le taux de la prothrombine est nettement abaissé, 50 % en moyenne.

Ainsi, quelle que soit l'étiologie de l'ictère, on observe une diminution du taux de la prothrombine, qui peut s'expliquer selon deux mécanismes décrits plus haut. Dans les cas d'hépatite, de cirrhose, la prothrombinogénèse est troublée par suite d'une insuffisance fonctionnelle hépatique légère pour les états infectieux bénins, profonde dans les cas d'hépatite grave, de cirrhose décompensée.

Pour les ictères par rétention, il s'agit d'un défaut d'absorption intestinale de la vitamine K, secondaire au trouble de l'excrétion biliaire, à moins que n'intervienne une atteinte du foie secondaire à la stase biliaire.

Ainsi, la valeur absolue du taux de prothrombine, quand elle n'est pas dans les régions extrêmes, ou normale, ou effondrée, n'apporte pas d'arguments probants dans le diagnostic et le pronostic d'un ictère tant que n'est pas précisée la cause primitive de l'anomalie constatée. L'hypoprothrombinémie est un signe qu'il faut interpréter : ce qui est possible grâce à une méthode préconisée par de nombreux auteurs (Kark and Souter, Allen et Jullian, Hansen, Begtrup, Koller et Jeanneret) : l'exploration fonctionnelle du foie par l'épreuve de la vitamine K, administrée par voie orale (associée à des sels biliaires) ou par voie parentérale, méthode qui permet de classer les malades selon leur aptitude à réagir à l'administration de la vitamine K. Pour ceux qui ne réagissent pas, c'est-à-dire ceux dont le taux de prothrombine n'est pas modifié après l'épreuve, on conclut à l'incapacité du foie d'effectuer normalement la synthèse de la prothrombine. Pour ceux qui réagissent, il s'agit vraisemblablement d'un trouble de l'absorption de la vitamine K.

Nous jugeons intéressant de citer les résultats rapportés

par Jeanneret, résultats qui montrent l'intérêt de la méthode, mettant en évidence sa valeur tant diagnostique que pronostique.

Cet auteur utilise une préparation de vitamine K synthétique hydrosoluble, ainsi facilement absorbable, même en l'absence de sels biliaires.

Après le dosage initial de la prothrombine, 30 mg. de vitamine K sont administrés au malade chaque jour pendant 3 jours. Un premier dosage de la prothrombine est fait le deuxième ou le troisième jour, un second le cinquième jour.

1° Chez les malades atteints d'ictère par obstruction des voies biliaires : leur réaction à la vitamine K est très marquée tant que le foie reste intact. En 36 heures, un taux normal ou subnormal est atteint, ce qui prouve l'intégrité de la fonction hépatique.

— Dans quelques cas cependant, ce n'est qu'au cinquième jour qu'on verra le taux se stabiliser à un niveau normal.

— Grâce à cette épreuve, on pourra mettre en évidence une atteinte parenchymateuse, compliquant la stase chronique des voies biliaires, révélée par l'impossibilité de normaliser le taux de prothrmobine malgré l'ingestion de vitamine K.

2° Dans l'ictère catarrhal bénin et l'hépatite épidémique : la vitamine K exerce une action variable; les malades, réagissant mal ou partiellement, peuvent être considérés comme plus sévèrement atteints que les autres, chez qui la réaction est plus rapide et plus complète.

Plus intéressante encore sera la répétition de l'épreuve, qui permettra ainsi de suivre l'évolution de l'hépatite et constituera un critère de guérison : l'amélioration progressive de l'épreuve laissant présumer la restitution *ad integrum* du parenchyme hépatique.

3° Dans les hépatites subaiguës et chroniques : l'inefficacité du traitement par la vitamine K témoigne de la gravité de l'atteinte du foie, qui est impuissant à utiliser la vitamine pour former de la prothrombine.

Malheureusement, de mauvaises conditions matérielles nous ont empêché de pratiquer utilement cette méthode et d'en tirer tous les avantages.

L'impossibilité de se procurer des quantités suffisantes de vitamine K toujours de même nature, le petit nombre de cas étudiés ne nous ont pas permis d'obtenir des résultats concluants.

Dans deux cas d'hépatites graves cependant, la baisse progressive du taux de la prothrombine, en dépit d'administration prolongée de K Thrombyl, permettait de conclure à la gravité de l'atteinte hépatique et de porter un pronostic sombre.

En résumé :

La recherche du temps de prothrombine présente toujours un grand intérêt dans l'étude des ictères.

Intérêt diagnostique :

Normal, il sera un argument en faveur de l'origine extra-hépatique de l'ictère; très prolongé, plus de 30'', il fera craindre une altération profonde de la fonction hépatique.

Dans tous les cas où il sera trouvé prolongé, l'épreuve à la vitamine K, permettant d'éliminer le fait de l'hypoprothrombinémie causée par un trouble de l'absorption de cette vitamine que nous avons vue indispensable à la synthèse de la prothrombine, étayera davantage le diagnostic.

Intérêt pronostique :

Pour un ictère mécanique, un temps de prothrombine normal ou se normalisant rapidement après ingestion de vitamine K apportera à la décision opératoire un argument de poids, écartant la crainte des risques d'hémorragies post-opératoires.

Pour un ictère d'origine hépatique, le dosage de la prothrombine constituera un test de gravité et fournira un moyen de suivre l'évolution d'une hépatite soit vers la guérison, soit vers l'aggravation.

DEUXIÈME PARTIE

DIAGNOSTIC ET PRONOSTIC D'UN ICTERE

Au cours des précédents chapitres, nous avons voulu préciser la valeur diagnostique et pronostique que l'on pouvait attribuer à différents modes d'exploration basés sur les perturbations protidiques du sérum qui s'observent dans les états d'insuffisance hépatique.

Dans la seconde partie de notre travail, nous soulignerons, à l'aide de quelques observations, l'aide importante que ces différents tests associés sont susceptibles d'apporter au clinicien pour résoudre les deux problèmes essentiels que pose un ictère : le problème du diagnostic et le problème du pronostic.

Il pourra nous être objecté que ces différents tests n'explorent qu'un secteur du fonctionnement hépatique, secteur qui, de plus, reste encore imparfaitement connu. Or, on sait que les nombreuses fonctions du foie sont rarement, si ce n'est jamais, affectées d'une façon égale. D'où la nécessité d'explorer plusieurs de ces fonctions afin de recueillir, ce que Fiessinger appelait un « instantané hépatique » et juger ainsi de la capacité fonctionnelle de cet organe.

Mais le choix des tests doit toujours dépendre du renseignement demandé. En l'occurrence, devant un ictère, ce qu'il importe, c'est de savoir :

1° s'il y a ou non une atteinte hépatique : le test au thymol, le dosage de l'activité cholinestérasique, par la concordance de leurs résultats, nous ont donné une réponse sûre;

2° quelles conclusions on en peut tirer du point de vue thérapeutique et pronostique :

a) l'état hépatique permet-il l'intervention chirurgicale s'il s'agit d'un ictère mécanique ?

b) l'état hépatique permet-il d'entrevoir une évolution favorable s'il s'agit d'une hépatite ?

Le dosage de l'activité cholinestérasique encore, la recherche du temps de Prothrombine surtout, isolée ou, mieux, associée à l'épreuve de la vitamine K, nous ont toujours apporté des renseignements précieux pour l'établissement de ce pronostic.

Il est toujours possible, par la suite, de constituer un bilan hépatique plus vaste, plus complet. Mais déjà le diagnostic est orienté, déjà le pronostic est soupçonné, et c'est là l'essentiel.

Contribution au diagnostic.

Le dosage de la bilirubine, l'évaluation des protides sériques et du rapport $\frac{\text{albumine}}{\text{globuline}}$, le test de turbidité au thymol, le dosage de la cholinestérase sérique, la recherche du temps de prothrombine, nous ont permis d'établir pour chaque malade un tableau de résultats assez caractéristique de chaque type d'ictère, ainsi que peuvent le montrer quelques observations :

I. — *Ictères infectieux.*

Observation I.
(Service de M. le Prof. Creyx.)

Bo..., 22 ans.

Diagnostic clinique : Ictère infectieux bénin d'intensité moyenne.

Examens faits au quatrième jour après l'apparition de l'ictère :

Bilirubine, mg./1.000 :
totale, 125;
directe, 100.
Protides totaux, g./100 : 72,1;
s. albumine, 36,2
s. globuline, 35,9 } $\frac{A}{G} = 1$;
Test au thymol, +, Dp = 65;
Cholinestérase, 2,2;
Prothrombine, 60 %.

Donc : rapport $\frac{A}{G}$ abaissé, test au thymol positif, taux de la cholinestérase et temps de prothrombine abaissés, ce qui constitue, comme nous le verrons, un syndrome biologique de l'ictère infectieux bénin. L'évolution se fait normalement vers la guérison au bout de deux semaines.

Observation II.

(Service de M. le Dr Dubourg.)

Mme Dete..., 30 ans.
Diagnostic clinique : Ictère infectieux bénin.
Ictère d'intensité moyenne, avec légère hépatalgie; état subfébrile.
Examens pratiqués au sixième jour après l'apparition de l'ictère.

Bilirubine, 75 mg.;
Protides totaux, 70 g.;
s. albumine, 34,5
s. globuline, 35,5 } $\frac{A}{G} = 0{,}95$;
Test au thymol, +, Dp = 130;
Cholinestérase, 2,2;
Prothrombine, 80 %.

Donc, syndrome biologique semblable au précédent. Atténuation rapide de l'ictère. Crise urinaire au dix-huitième jour.

Observation III.

(Service de M. le Prof. Fontan.)

Bernadette..., 7 ans.

Diagnostic clinique : Ictère catarrhal prolongé.

Au moment des examens : ictère évoluant depuis deux mois avec une température oscillant entre 37° et 38°, avec tendance récente à l'amélioration.

Bilirubine, 50 mg;

Protides totaux, 70 g.;

s. albumine, 44,8 } $\frac{A}{G} = 1,7$;
s. globuline, 25,2 }

Test au thymol, +, Dp = 85;

Cholinestérase, 2,4.

Nous notons : un taux de cholinestérase abaissé, un test au thymol positif avec un rapport $\frac{A}{G}$ normal, ce qui montre, comme nous l'avons vu plus haut, que le test au thymol traduit non des modifications quantitatives, mais qualitatives de la protidémie.

Observation IV.

(Service de Clinique médicale.)

Mme X..., 70 ans.

Diagnostic clinique : ictère infectieux aggravé.

Ictère qui a débuté assez brusquement, un mois avant l'entrée de la malade à l'hôpital. Bien supporté au début, mais aggravation soudaine qui entraine l'hospitalisation le 28 novembre 1946.

Ictère extrêmement foncé, malade prostrée, presque comateuse; température à 39°, oligurie, pas d'hémorragie, pas de purpura. Foie un peu gros, lisse; vésicule non perceptible, rate non percutable, polynucléose.

Décès le 1er décembre 1946. L'autopsie ne put être faite. Nous avions recueilli les résultats suivants :

Bilirubine :
totale, 950 mg.;
directe, 750 mg.;
Protides totaux : 80 g.;
s. albumine, 35,8 } $\frac{A}{G}$ = 0,8;
s. globuline, 44,2 }
Test au thymol, +, Dp = 200;
Cholinestérase, 1,6;
Prothrombine, 20 %.

Ils indiquent tout de suite un pronostic très sévère, notamment l'effondrement de la prothrombine, comme nous l'avons déjà souligné dans un chapitre précédent.

II. — *Ictères par rétention.*

A ces observations, qui montrent toutes un syndrome biologique commun, en rapport avec l'atteinte de la cellule hépatique, s'opposent les observations suivantes :

Observation V.

(Service de M. le Prof. Damade.)

Mme Ren..., 45 ans.
Diagnostic clinique : lithiase biliaire.
Ictère apparu au lendemain d'une crise de colique hépatique.
Image de calcul vésiculaire à la radiographie au troisième jour de l'ictère :

Bilirubine :
totale, 80 mg.;
directe, 75 mg.;

Protides totaux, 65,7 g. :

s. albumine, 36,9
s. globuline, 28,8 $\Big\} \frac{A}{G} = 1,3;$

Test au thymol, —, Dp = 23;

Cholinestérase, 3,3;

Prothrombine, 100 %.

Donc, test au thymol négatif, $\frac{A}{G}$ normal, cholinestérase subnormale, prothrombine normale.

L'ictère s'atténue rapidement.

Observation VI.

(M. le Prof. Traissac.)

Mme Si...

Diagnostic clinique : Calcul du cholédoque.

Ictère ayant débuté après une crise douloureuse fébrile de l'hypocondre droit. Décoloration des matières. Premier tubage douloureux négatif; le deuxième tubage provoque une crise douloureuse violente, suivie d'une chasse biliaire. Chute de la température, l'ictère s'atténue.

Avant l'intervention, nous obtenons les résultats suivants :

Bilirubine :

totale, 110 mg.;

directe, 100 mg.;

Protides totaux, 78 mg. :

s. albumine, 37 g.
s. globuline, 41 g. $\Big\} \frac{A}{G} = 0,9;$

Test au thymol, —, Dp = 26;

Cholinestérase, 6,8;

Prothrombine, 100 %.

Chez cette malade, on note donc un temps de prothrombine normal, une activité cholinestérasique même augmentée, un test au thymol négatif; l'inversion du rapport $\frac{A}{G}$ peut s'expliquer par des

phénomènes inflammatoires qu'ont vérifié les constatations opératoires.

A l'intervention : Cholécystite postlithiasique avec péricholécystite.

Bonnes suites opératoires.

Observation VII.

(Service de M. le Dr Lafargue.)

Mme Cou..., 40 ans.

Diagnostic : Ictère lithiasique.

Lors des examens, ictère évoluant depuis trois semaines par poussées fébriles et douloureuses, selles décolorées.

Antécédents lithiasiques :

A l'examen radiologique, duodénite, calculs vésiculaires :

Bilirubine :
totale, 110 mg.;
directe, 80 g.;
Protides totaux, 70,6 g. :
s. albumine, 37,8
s. globuline, 32,8 $\Big\} \frac{A}{G} = 1{,}16$;
Test au thymol, —, Dp = 19;
Cholinestérase, 3,65;
Prothrombine, 50 %.

Le taux abaissé de la prothrombine paraît en contradiction avec les autres résultats, sensiblement normaux, mais il résulte vraisemblablement d'un défaut d'absorption intestinale de la vitamine K.

Après injection intramusculaire de 12 mg. de K thrombyl, un deuxième dosage de prothrombine donne un taux de 60 %, mais la dose de vitamine K est insuffisante, et on ne peut tirer de conclusions intéressantes de ce résultat traduisant cependant une légère réaction.

Vers la cinquième semaine après le début, atténuation progressive de l'ictère : la malade quitte l'hôpital.

OBSERVATION VIII.
(M. le Dr SERVANTIE.)

Bel...

Diagnostic clinique : Calcul au cholédoque.
Ictère intermittent fébrile; image de calcul à la radiographie.

Bilirubine :
totale, 288 mg.;
directe, 260 mg.;
Protides totaux, 70,7 g. :
s. albumine, 42,5
s. globuline, 28,2 $\Big\} \frac{A}{G} = 1,5$;
Test au thymol, —, Dp = 18;
Cholinestérase, 3,3;
Prothrombine, 65 %.

Ces résultats traduisent un fonctionnement hépatique normal. L'abaissement du taux de prothrombine est vraisemblablement, comme précédemment, en rapport avec un trouble de l'absorption intestinale de la vitamine K.

OBSERVATION IX.
(De M. le Dr SERVANTIE.)

Dau..., 70 ans.
Diagnostic clinique : néo du pancréas.
Ictère progressif, non douloureux, apyrétique.

Bilirubine :
totale, 400 mg.;
directe, 380 mg.;
Protides totaux, 77 g. :
s. albumine, 45 g.
s. globuline, 32 g. $\Big\} \frac{A}{G} = 1,4$;
Test au thymol, —, Dp = 28;
Cholinestérase, 3,1;
Prothrombine, 50 %.

Même remarque au sujet de la prothrombine que pour l'observation précédente. L'intervention chirurgicale vérifie l'hypothèse d'un néo du pancréas.

III

De ces dernières observations, nous rapprocherons celle d'un ictère catarrhal.

Observation X.

(Service de Clinique médicale.)

Tap..., 29 ans.

A l'entrée à l'hôpital : ictère apparu depuis trois semaines, s'accentuant progressivement, sans période de rémission, avec décoloration des selles, urines de plus en plus foncées, prurit important, légère asthénie, apyrexie. Absence de douleurs spontanées, aucun antécédent hépatique.

A l'examen : légère douleur provoquée au niveau du point vésiculaire, foie dépassant légèrement le rebord costal, vésicule biliaire non palpable, rate non percutable, pas d'image de calcul biliaire à l'examen radiologique.

Bilirubine :
totale, 320 mg.;
directe, 180 mg.;
Protides totaux, 76,3 g. :
s. albumine, 42,1
s. globuline, 34,2
$\left.\begin{matrix} \\ \\ \end{matrix}\right\} \frac{A}{G} = 1{,}24;$
Test au thymol, —, Dp = 22;
Cholinestérase, 5,8;
Prothrombine, 55 %.

36 heures après l'administration de 24 mg. de K thrombyl (injections intramusculaires), le taux de prothrombine remontait à 70 %.

Evolution rapide vers la guérison au bout de quinze jours.

Ces différents résultats permettent d'écarter l'hypothèse d'une hépatite et on peut discuter à l'origine de cet ictère une inflammation des voies biliaires externes.

Contribution au pronostic.

1° *Il s'agit d'un ictère par obstruction.* La question de l'intervention chirurgicale se pose, mais il faut estimer le risque opératoire, et c'est là qu'un taux normal de cholinestérase, qu'un taux de prothrombine normal, ou se normalisant rapidement après l'administration de vitamine K, trouvent toute leur valeur, pour écarter l'hypothèse de l'hépatite secondaire, et pour admettre une résistance suffisante du sujet et ne pas craindre le risque d'hémorragies post-opératoires.

Au contraire, une perturbation importante de l'équilibre protidique, une activité cholinestérasique diminuée, un temps de prothrombine prolongé, feront porter un pronostic plus réservé, prendre des mesures de prudence : intervention à minima, traitement antihémorragique préventif.

Observation XI.

(Service de M. le Prof. Papin.)

Chi..., 72 ans.

Diagnostic clinique : calcul du cholédoque.

Ictère intermittent fébrile et douloureux, évoluant depuis plusieurs mois.

Le 6 novembre 1946, nous trouvons les résultats :

Bilirubine :

totale, 57 mg.;

directe, 50 mg.;

Protides totaux, 75 g. :

s. globuline, 39
s. albumine, 36 $\Big\} \frac{A}{G} = 0{,}9$;

Test au thymol, +, Dp = 80;

Cholinestérase, 2,2;

Prothrombine, 100 %.

Chez ce malade, on trouvait donc un temps de prothrombine

normal, élément de pronostic favorable; mais, par contre, un test au thymol nettement positif, une inversion du rapport $\frac{A}{G}$, un taux de cholinestérase abaissé, suscitaient des réserves.

Le 13 novembre 1946, intervention chirurgicale sous anesthésie locale; on note un gros foie congestif, de consistance élastique. Extraction d'un gros calcul du cholédoque.

Suites opératoires. — Dans les jours qui suivent, élévation de la température, accentuation de l'ictère. Pas de manifestation hémorragique, mais les examens confirment le diagnostic d'hépatite.

Bilirubine :
totale, 72 mg.;
directe, 52 mg.
Protides totaux, 75 g. :
s. albumine, 35 g. } $\frac{A}{G} = 0,85$;
s. globuline, 40 g. }
Test au thymol, +, Dp = 95;
Cholinestérase, 1,9;
Prothrombine, 75 %.

L'ictère persiste pendant trois semaines, puis s'améliore progressivement.

Le malade quitte l'hôpital guéri.

Observation XII.

(Service de M. le Dr Dubourg.)

X..., 76 ans.
Diagnostic clinique : calcul du cholédoque.
Ictère intermittent fébrile depuis mars 1946.
Antécédents hépatiques depuis 1918.
Le 10 novembre 1946, nous obtenons :

Bilirubine :
totale, 120 mg.;
directe, 90 mg.;

Protides totaux, 70 g. :
s. globuline, 43
s. albumine, 27 $\Big\} \frac{A}{G} = 0,6$;
Test au thymol, +, Dp = 90;
Cholinestérase, 2,2;
Prothrombine, 40 %.

Signes nets d'hépatite secondaire, avec un très mauvais état général. On renonce à l'intervention chirurgicale.

Décès quelques jours après les examens. A l'autopsie, on trouve trois calculs du volume d'une noisette et deux autres de volume inférieur dans le cholédoque; vésicule à paroi épaissie contenant une bouillie calculeuse.

Examen histologique du foie : Sclérose des espaces de Kiernan, infiltrée d'éléments inflammatoires (lymphocytes) avec ébauche d'aspect d'une cirrhose annulaire. Travées hépatiques légèrement disloquées avec aspects dégénératifs en quelques points. Dans l'ensemble, lésions modérées, mais diffuses.

2° *Il s'agit d'un ictère par hépatite.* Des examens répétés permettront d'en suivre l'évolution, affirmant la guérison lorsqu'il y aura concordance dans un retour à la normale des différents examens, éveillant au contraire l'attention devant une persistance anormalement prolongée des résultats pathologiques, faisant porter enfin un pronostic très réservé lorsque seront notées dans les fonctions explorées des perturbations profondes et irréversibles.

Observation XIII.

(Service de M. le Dr Dubourg.)

Mme La..., 46 ans.

Diagnostic clinique : Ictère infectieux bénin chez une malade en cours de traitement antisyphilitique (bivatol).

Des examens répétés pendant la période d'état et la convalescence nous donnèrent les résultats suivants :

	DATES			
	23 sept. 1946	2 oct. 1946	9 oct. 1946	25 oct. 1946
Bilirubine	120 mg.	35 mg.	8 mg.	8 mg.
Protides totaux	70,7	77		77,7
S. albumine	33,1	38,1		40
S. globuline	37,6	38,9		37,7
	$\frac{A}{G} = 0,85$	$\frac{A}{G} = 1$		$\frac{A}{G} = 1,1$
Test à thymol	+, 140	+, 105	+, 70	—, 27
Cholinestérase	1,20	3,43	4,3	4,3
Prothrombine	70 %			100 %

Nous voyons que, parallèlement à la baisse de la bilirubine, on assiste à un retour progressif à la normale des différents éléments du syndrome protidique, le rapport $\frac{A}{G}$ s'élève, l'intensité de la réaction au thymol s'atténue, l'activité cholinestérasique remonte, le taux de prothrombine, légèrement abaissé à la période initiale, retrouve son chiffre normal, et on peut conclure à une reprise complète du fonctionnement normal hépatique.

Cependant, il est intéressant de noter que le 9 octobre, alors que l'examen de la malade montrait une disparition complète des signes cliniques, il persistait encore une perturbation de l'état humoral, reflétée par un test au thymol positif. Ce n'est que lors des examens suivants que la guérison pouvait être affirmée.

Une évolution analogue est relevée dans l'observation suivante :

Observation XIV.

(Service de M. le Prof. Bonnin.)

X...

Diagnostic clinique : Ictère infectieux bénin.

Avec période prodromique marquée par une élévation de température à 38°, des troubles digestifs, des troubles nerveux (délire, rachialgie).

	DATES		
	31 octobre 1946	7 novembre 1946	16 novembre 1946
Bilirubine	80 mg.	42 mg.	14 mg.
Protides totaux	81,9	77,7	77,7
S. albumine	50	47	46
S. globuline	31	30,7	31
	$\frac{A}{G} = 1,6$	$\frac{A}{G} = 1,6$	$\frac{A}{G} = 1,5$
Test au Thymol	+, 80	+, 50	—, 32
Cholinestérase	2,9	3,5	5,5
Prothrombine	80 %	—	100 %

OBSERVATION XV.

(Service de M. le Prof. DAMADE.)

Mme Da..., 38 ans.

Diagnostic : Hépatite ictéro-œdémateuse.

Ictère apyrétique indolore, apparu au mois de juin 1946 (chez une malade dans les antécédents de laquelle on trouve une crise de colique hépatique en 1943), évoluant depuis lors avec des alternatives d'aggravation et de rémission.

Malade présentant à son entrée à l'hôpital, le 18 septembre 1946, un état général peu altéré : température à 38°, légère anémie, hyperleucocytose, vitesse de sédimentation peu accélérée, crase sanguine normale (T. S. = 3'. T. C. = 7').

Cholécystographie au bilisélectan : Vésicule s'injectant normalement, absence d'image calculeuse.

Le 29 septembre 1946, nous trouvions les résultats suivants :

Bilirubine, 180 mg.;
Protides totaux, 70 :
s. globuline : 41
s. albumine : 29 $\Big\} \frac{A}{G} = 0,7$;
Test au thymol, +, Dp = 70;
Cholestérol, 0,90;
Cholinestérase, 0,80;
Prothrombine, 10 % (35").

L'effondrement de la cholinestérase, le taux extrêmement bas de la prothrombine, en contradiction avec un temps de coagulation

normal, nous faisaient porter un pronostic très sombre, en désaccord avec l'apparence clinique.

Mais, dans les jours suivants, une aggravation brutale de la maladie venait confirmer le pronostic porté sur les examens biologiques :

— Le 3 octobre, apparition d'œdème des membres inférieurs, puis ascite, hydrothorax.

— Le 9, élévation de la température à 39°, diurèse réduite, au-dessous de 1 litre.

Après un traitement intensif par la vitamine K, lors d'un second dosage, le taux de prothrombine est trouvé encore plus abaissé : moins de 1 % (42″) en présence de fibrinogène étranger.

— Le 20 octobre :

Bilirubine, 110 mg.;
Test au thymol, —, Dp = 32;
Cholestérol, 0,32;
Lipides totaux, 0,48;
Cholinestérase, 0,70.

Malade somnolente, presque comateuse.

Décès le 23 octobre 1946. L'autopsie ne peut être faite.

N.-B. — Le fait que le test au thymol soit devenu négatif peut s'expliquer par l'effondrement de la lipémie, comme nous l'avons déjà noté dans un chapitre précédent.

Observation XVI.

(Service de M. le Prof. Damade.)

Mme Fa..., 60 ans.

Diagnostic clinique : Hépatite ictéro-œdémateuse.

Malade hospitalisée le 5 octobre 1946 pour un syndrome ictéro-œdémateux. Le début de l'ictère remonte au mois de juillet : début non fébrile, sans douleur, avec quelques troubles dyspeptiques. Dans les mois qui suivent, l'ictère évolue par poussées sans fièvre.

Fin septembre s'installe un œdème malléolaire, qui, s'accentuant, décide la malade à se faire hospitaliser.

Au moment de son entrée, elle présente une crise douloureuse passagère de l'hypocondre droit avec vomissements.

A l'examen : Ictère franc, œdème des membres inférieurs; œdème lombaire, ascite, hydrothorax; le foie déborde légèrement le rebord costal; la rate semble percutable.

Formule sanguine :

Globules rouges, 4.061.000;
Globules blancs, 8.680, répartis en :
Polynucléaires, 82 %;
Monocytes, 2 %;
Lymphocytes, 16 %.
Temps de saignement, 3′;
Temps de coagulation, 8′.

	DATES			
	7 oct. 1946	11 oct. 1946	20 oct. 1946	25 oct. 1946
Bilirubine	280		75	65
Protides totaux	71,2			60,9
S. Albumine	35,3 $\left\{ \frac{A}{G} = 1 \right.$			25,4 $\left\{ \frac{A}{G} = 0,7 \right.$
S. Globuline	35,8 $\left\{ \frac{A}{G} = 1 \right.$			35,5 $\left\{ \frac{A}{G} = 0,7 \right.$
Test au thymol	+, 50		+, 55	+, 80
Cholinestérase	2,25			1,3
Prothrombine	50 %	50 %	20 %	20 %

Ici, la gravité du pronostic nous est donnée plus par l'évolution que par les premiers résultats :

Baisse du rapport $\frac{A}{G}$ (de 1 à 0,71);
Baisse de la cholinestérase;
Baisse de la prothrombine, en dépit de l'administration de vitamine K;
Elévation progressive du test au thymol,

cette évolution du syndrome biologique traduisant une déchéance hépatique profonde et irréversible.

Le 30 octobre 1946, la malade quittait l'hôpital mourante.

Observation XVII.
(Service de Clinique médicale.)

Ca..., 50 ans.

Diagnostic clinique : Cirrhose biliaire, syndrome de Hanot.

Ictère persistant depuis plusieurs mois avec des périodes d'amélioration alternant avec des rechutes; maintien d'un bon état général.

A l'examen : Hépatomégalie, foie très dur, débordant de quatre travers de doigt le rebord costal, non douloureux; bord inférieur tranchant, régulier. Rate palpable. Pas d'ascite.

Bilirubine :
totale, 90 mg.;
directe, 75;
Protides totaux, 74,5 :
s. albumine, 40,3
s. globuline, 34,2
$\left.\begin{matrix}\text{s. albumine, 40,3}\\ \text{s. globuline, 34,2}\end{matrix}\right\} \frac{A}{G} = 1,17;$
Test au thymol, +, 63;
Cholinestérase, 3,5;
Prothrombine, 80 %.

Ces résultats traduisent une déficience hépatique légère, en accord avec le diagnostic clinique, la cirrhose biliaire évoluant longtemps sans signes marqués d'insuffisance hépatique.

A cette observation s'oppose nettement la suivante :

Observation XVIII.
(Service de Clinique médicale.)

Mme X..., 50 ans.

Diagnostic clinique : Poussée ictéro-œdémateuse chez une cirrhotique (cirrhose de Laënnec).

Mauvais état général, ascite se reproduisant rapidement, nécessitant des paracentèses répétées; pas de manifestations hémorragiques.

Bilirubine, 130 mg.;
Protides totaux, 77,7;
s. albumine, 28
s. globuline, 45
$\left.\begin{matrix} \text{s. albumine, 28} \\ \text{s. globuline, 45} \end{matrix}\right\} \frac{A}{G} = 0{,}6;$
Test au thymol, +, Dp = 115;
Cholinestérase, 2,2;
Prothrombine, 20 %.

Ces résultats révèlent une atteinte hépatique sévère, avec le pronostic grave que comporte toujours une cirrhose décompensée.

Discussion.

Le diagnostic d'un ictère est souvent difficile, car les données cliniques ne sont pas toujours capables d'éclairer le problème, et les tests d'exploration fonctionnelle hépatique n'apportent pas obligatoirement une aide efficace lorsqu'ils sont choisis sans discernement.

Aussi les différents auteurs s'attachent-ils toujours à préconiser une combinaison de tests adaptés aux cas envisagés, celui d'un ictère en particulier, à laquelle leur expérience leur a permis d'attribuer une valeur indéniable. « L'instantané hépatique » de N. Fiessinger, le « cholémogramme » de Chabrol, qui en sont le type, sont parmi les plus intéressantes et les plus utilisées.

Elles peuvent être ainsi schématisées :

1° L'« *instantané hépatique* » :

ROSE BENGALE = I. B. P.	GALACTOSURIE	DIAGNOSTIC
Taux faibles	+	Hépatite graisseuse.
	—	Sujet normal.
Taux élevés	+	Ictère par hépatite.
	—	Ictère de cholostase.
Taux moyens	—	Ictère de cholostase qui débute.
		Soit ictère qui finit.
	+	Soit ictère qui débute.
		Soit hépatite avec subictère.

2° *Le « cholémogramme » de Chabrol :*

DIAGNOSTIC	PIGMENTS	SELS BILIAIRES	CHOLESTÉROL	ACIDES GRAS R.S. n. saturé P.V.
Ictère grave	+++	Baisse	— —	Baisse
Ictère infectieux bénin	+++	+++	—	Normal
Spirochétose ictérigène	++++	++	Normal	++++
Ictère mécanique au début.	++++	++++	++++	++++
Ictère mécanique per. ter. minale	++++	Diminue progressivement	++	++
Cirrhose ictérigène	+++	Variable	++ ou +	+

3° *Le schéma proposé par Maclagan :*

DIAGNOSTIC	THYMOL TEST	PHOSPHATASES
Ictère mécanique	—	+ +
Ictère infectieux ou toxique.....	+	normal

4° Après avoir cité ces différentes associations de tests dont il est inutile de souligner l'intérêt, car l'expérience de nombreuses années en a consacré la valeur, nous proposons le tableau schématique que nous ont permis d'établir les différentes observations que nous avons pu suivre :

DIAGNOSTIC	Bilirubine	$\frac{A}{G}$	Test au Thymol	Cholestérol	Cholinestérase	Prothrombine	
						Avant	Après vit. K
Ictère infectieux bénin..	++	—	++	—	—	—	±
Ictère infectieux aggravé.	+++	— —	+++		— —	— — —	— — —
Ictère grave	+	— —	+	— —	— —	— — —	— — —
Cirrhose avec ictère	++	— —	++	—	—	— —	— —
Ictère mécanique au début	+++	Normal	—	+++	Normal	Variable	Normal
Ictère mécanique, période avancée	+++	—	+	+	—	— —	Normal ou —

Il est évident que le nombre de cas que nous avons pu étudier est insuffisant pour nous permettre d'attribuer à ce schéma une valeur absolument certaine. Cependant, dès maintenant, il est permis d'en entrevoir tout l'intérêt.

Intérêt matériel.

Il nous paraît utile de rappeler ici la simplicité et la rapidité des différentes techniques que nous proposons et qui toutes requièrent une quantité de sang très faible (10 à 15 cm^3 de sang au total suffisent) pour l'ensemble des épreuves, avantage indéniable, qui permet des examens répétés sans risque de porter préjudice au malade.

Intérêt diagnostique.

Dans ses grandes lignes, le diagnostic peut être ainsi orienté :

— Un ictérique, chez lequel on trouve un test au thymol négatif, une activité cholinestérasique normale ou subnormale, un taux de prothrombine normal, ou se normalisant

après administration d'une quantité suffisante de vitamine K, a probablement une obstruction biliaire;

— Au contraire, pour l'ictérique qui présenterait un test au thymol positif, une activité cholinestérasique nettement diminuée (au-dessous de 3), une hypothrombinémie irréductible, on pourra écarter l'hypothèse d'une obstruction des voies biliaires, réserve faite de l'atteinte hépatique secondaire.

Intérêt pronostique.

Non moins important :

1° Ici, nous soulignerons plus particulièrement la valeur du dosage de la prothrombine pour l'estimation des risques opératoires d'un ictère chirurgical, soit une contre-indication formelle dans la découverte d'un taux très abaissé et résistant à l'administration de vitamine K,

— soit l'indication d'un traitement par la vitamine K efficace dans la période préopératoire, utile pour préparer le malade à subir avec succès l'intervention.

2° Utile également sera le dosage de l'activité cholinestérasique et la recherche du test au thymol qui, trouvés positifs, ne constitueront pas une contre-indication à l'intervention, mais faisant soupçonner l'hépatite, influenceront le choix du type d'intervention et entraîneront dans les suites opératoires une surveillance toute particulière du malade.

N. B. — MM. Gounelle et Marche viennent de résumer leurs recherches sur le taux de phosphatase qui serait inférieur à 10 U.B. dans 100 p. 100 des cas d'ictères par hépatite et souvent supérieur à 10 U.B. dans les ictères par rétention. Le phosphore minéral aurait tendance à s'abaisser dans les ictères par hépatite et à s'élever dans les ictères par rétention. Ces auteurs concluent qu'il ne faut évidemment pas demander à ces dosages plus de renseignements qu'ils ne peuvent en fournir, mais dans le concert des résultats divers les notes qu'ils apportent peuvent, à côté des autres, être dans certains cas utiles au praticien (*C. R. Soc. Biol.*, 1946, 1401. 781.)

CONCLUSIONS

I. — Quand on veut doser la bilirubine du sérum, il faut utiliser une méthode par diazotation : la méthode de Jendrassik et Gröf, modifiée par With, paraît présenter le plus de garanties et, en outre, elle peut être utilisée en micro-méthode, sur 0 cm^3 2 de sérum. Par l'emploi de la caféine, elle donne un taux de bilirubine supérieur de plus de 20 % à celui donné par les méthodes utilisant l'alcool pour libérer la bilirubine indirecte. Elle permet, par l'emploi du photomètre, d'établir une courbe pour la lecture de la bilirubine directe. Elle donne une gamme très tranchée dans les doses faibles de bilirubine, où la méthode de Hymans van den Bergh ne permet que des approximations difficiles.

II. — Depuis longtemps, l'importance du taux de la protidémie et du calcul du rapport $\frac{\text{albumine}}{\text{globuline}}$ a été reconnue. Nous avons choisi la méthode de Weichselbaum pour permettre la détermination rapide de ces données, et nous en avons décrit la technique complète. L'hyperprotidémie, fréquente au cours de l'ictère catarrhal, revient à la normale lors de la guérison. Les modifications du rapport $\frac{A}{G}$ ont aussi leur valeur propre dans les cas de déficience hépatique, où l'on peut constater quelquefois une inversion de ce rapport. Ceci nous a amené à étudier le rôle du foie dans la protidogénèse et à opposer l'albuminémie d'origine hépatique à la globulinémie, d'origine réticulo-endothéliale.

Si l'étude du rapport $\frac{A}{G}$ peut parfois orienter le diagnostic biologique d'un ictère, sa valeur pronostique paraît plus importante. Mais on ne peut cependant lui attribuer un caractère spécifique et, en outre, on a pu opposer à la valeur chimique de ce rapport sa valeur électrophorétique, nouvelle donnée que l'on ne peut maintenant négliger.

Les travaux les plus récents d'électrophorèse sur les protides sanguins au cours des ictères par hépatite montrent, en effet, une opposition entre le dosage des globulines par méthode chimique et par électrophorèse, alors que les résultats sont superposables quand on opère sur des sérums de sujets normaux ou de malades atteints d'ictères mécaniques. On peut donc conclure à un syndrome électrophorétique spécial au cours des hépatites, et différent du syndrome protidique chimique, qui apparaît, le plus souvent, sensiblement normal. Cette opposition apparente est en rapport avec les modifications qualitatives des globulines, α, β et γ, isolées par électrophorèse. Les modifications qualitatives, dues surtout à l'augmentation de la fraction γ des globulines, paraissent être la notion à retenir.

Ces γ-globulines ont la caractéristique de pouvoir être étudiées par des réactions considérées jusqu'à maintenant comme non spécifiques, telles que la réaction de Takata-Ara, la réaction à l'or colloïdal, la réaction céphaline-cholestérol, la réaction de turbidité au thymol de Maclagan. C'est cette dernière que nous avons étudiée en la décrivant dans tous ses détails, en l'appliquant au photomètre de Vernes et en signalant les causes d'erreur et leur origine possible.

Le test de turbidité au thymol nous a permis de confirmer l'opposition très nette qui existe entre les résultats obtenus dans les cas d'ictères avec hépatite d'une part et les ictères extrahépatiques d'autre part.

Nous avons insisté sur l'intérêt de cette réaction facile à réaliser, économique en sérum sanguin, pour suivre l'évolution des ictères.

III. — Nous avons appliqué à l'étude des ictères, d'une manière systématique, l'étude de la pseudo-cholinestérase du sérum, dont l'origine hépatique semble être actuellement démontrée.

En raison de l'emploi des sérums ictériques, la méthode de Stedmann et White a dû être modifiée, et nous avons adopté les modifications de M. le Docteur Servantie et de Mlle Lafonta, avec étalon stabilisé. Nous avons trouvé par l'application de cette technique, chez les sujets normaux, les mêmes chiffres que Vincent et de Prat, soit de 4 à 5,5 cm^3 de Na OH N/100.

Dans les ictères avec hépatite, nous trouvons un taux de cholinestérase inférieur à 3, tandis que dans les ictères par obstruction, le taux de la cholinestérase est supérieur à 3 et peut même dépasser la normale.

La baisse du taux de la cholinestérase peut faire juger de la gravité de la lésion hépatique.

Avant une intervention chirurgicale, la valeur de la cholinestérase semble permettre d'apprécier la valeur fonctionnelle du foie et juger de la capacité de résistance du malade.

Les dosages en série présentent un très grand intérêt pour juger de l'évolution d'un ictère et permettre de prévoir ou la guérison ou l'aboutissement fatal.

IV. — Nous avons pratiqué systématiquement le dosage de la prothrombine dans le plasma des ictériques. D'après les travaux de Quick, il y aurait dans la prothrombine 2 constituants, A et B. C'est le constituant B qui disparaîtrait dans certains ictères.

Nous avons discuté les causes pathologiques productrices de l'hypothrombinémie dans les ictères justifiables d'une intervention, le test à la vitamine K joint à sa valeur diagnostique une valeur pronostique considérable.

Cette technique représente donc une acquisition incontestable tant au point de vue biologique qu'au point de vue thérapeutique.

V. — Nos différents résultats peuvent être rassemblés dans un tableau schématique, auquel nous ajoutons le dosage du cholestérol, bien que nous ne l'ayons pas spécialement étudié, mais qui, en outre de sa valeur propre, paraît utile à connaître dans l'interprétation de certains résultats du test et de turbidité au thymol.

DIAGNOSTIC	Bilirubinémie	$\frac{A}{G}$	Test au Thymol	Cholestérol	Cholinestérase	Prothrombine Avant	Prothrombine Après vit. K
Ictère infectieux bénin..	++	—	++	—	—	—	±
Ictère infectieux aggravé.	+++	— —	+++		— —	— — —	— — —
Ictère grave	+	— —	+	— —	— —	— — —	— — —
Cirrhose avec ictère	++	— —	++	—	—	— —	— —
Ictère mécanique au début	+++	Normal	—	+++	Normal	Variable	Normal
Ictère mécanique, période avancée	+++	—	+	+	—	— —	Normal ou —

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères, et, s'ils devaient apprendre la médecine ou recourir à mes soins, je les instruirais et les soignerais sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes, et, si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

VU, BON A IMPRIMER :
Le Président,
DAMADE.

VU : Le Doyen,
R. DUPÉRIÉ.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Bordeaux, le 3 janvier 1947.
Le Recteur de l'Académie,
A. MARCHAUD.

BIBLIOGRAPHIE

Alphonse et Junet. — Acquisitions récentes sur l'hépatite épidémique. *Revue du foie*, 2, 1946, 117.

Chabrol. — Nouvelles études cliniques et biologiques sur la pathologie du foie.

Wade (Leo J.). — Liver Function tests. *Amer. J. Clin. Path.*, 1946, 16, 426-36.

I. — Bilirubinémie.

Bennhold (H.). — *Erg. inn. med.*, 1932, 42, 273.

Coolidge (T.). — Chemistry of the van den Berg reaction. *J. of. Biol. Chem.*, 1940, 132, 119.

Hymans van den Berg. — *Biochem. Z.*, 1916, 77, 90.

Jendrassik et Gröf. — *Biochem. Z.*, 1938, 297, 51.

Pedersen et Waldremstorm. — *Diese Z.*, 1937, 245, 152.

Polonowski (M.), Fiessinger (N.), Gajdos (A.). — Sur la bilirubinoglobine et la globine libre du plasma humain. *C. R. de la Soc. de biol.*, Paris, séance du 14 nov. 1942, 714.

Polonowski (M.), Gajdos (A.). — De l'hémoglobine à la bilirubine et à l'urobiline. *Exposés annuels de biochimie médicale*, 5e série, p. 152.

Torben (K.), With. — *Zeitschrift für physiologische chemie*, 1943, 278, 120-135.

II. — Protidémie.

Bjorneboe-Mogens. — Studies on the serum proteins. *Acta med. Scandinav.*, 1946, 123, 393.

Courrier. — *Bull. de l'Acad. de méd.*, Paris, 1946, 110.

Dumont. — Influence des régimes déficitaires et du jeûne sur le taux des protéines sériques et sur le rapport sérine/globuline chez le chien. *Acta biol. Belg.*, 1942, 2, 197-200.

Grabar (P.). — Les globulines du sérum sanguin. Congrès de Liége, oct. 1946.

Gray (S. J.). — The electrophoretic analysis of the serum proteins in diseases of the liver. *J. clin. Invest.*, 1943, 22, 191-200.

Henriques et Klausen. — *Biochem. Z.*, 1932, 254, 414.

Janeway. — *Nord. Medicin.*, 1945, 26, 212.

Kagan. — L'hyperglobulinémie. *Amer. J. med. Sc.*, 1943, 206, 309-15.

Loeper. — L'hyperprotéidémie de l'ictère catarrhal. *Bull. de l'Acad. de méd.*, 1945, 129, 33-35.

Longsworth (L. G.). — Electrophoretic patterns of normal and pathological human blood serum and plasma. *J. exp. Med.*, 1939, 70, 399.

Luetscher (J. A.). — Electrophoretic analysis of plasma and urinary proteins. *J. of Clin. Invest.*, 1940, 19, 313.

Maclagan (N. F.). — The thymol turbidity test as an indicator of liver dysfunction. *Brit. J. exper. path.*, 1944, 24, 234.

— The thymol turbidity test : a new indicator of liver dysfunction. *Nature*, 1944, 154, 670.

— Liver Function tests. *Proceedings of the association of clinical pathologists*, juill. 1945.

Post (J.), Patck (A.). — Serums proteins in cirrhosis of the liver. Nitrogen balances on five patients. *Arch. intern. med.*, 1942, 69, 83-9.

Recant (L.), Chargaff, Hanger. — Comparison of the cephalin. cholesterol flocculation with the thymol turbidity test. — *Proc. Soc. exper. biol. and med.*, 1945, 60, 245.

Shank (R.) and Hoagland (Ch.). — A modified methode for the quantitative determination of the thymol turbidity reaction of serum. *J. biol. Chemistry*, 1946, 162, 133-38.

Watson (C. J.). — A comparison of the results obtained with the Hanger cephaline-cholesterol flocculation test and the

Maclagan thymol turbidity test in patients with liver disease. *J. lab. and. clin. med.*, 1945, 30, 983.

Weech. — *Bull. N.-Y. Ac. Med.*, 1939, 15, 63.

Wieichselbaum (T. E.). — Determinations of proteins in blood. *Amer. J. clin. Pathology*, 1946, 16, 40.

III. — La cholinestérase sérique.

Antopol (W.), Tuchman (I.), Shifrin (A.). — Cholinesterase activity of human sera with special reference to hyperthyroïdism. *Proc. Soc. exp. biol. med.*, 1937, 36, 47.

— Cholinesterase activity in liver disease with or without jaundice. *Proc. Soc. exp. biol. med.*, 1938, 38, 363.

Ardle (Mc). — *Quart. J. med.*, 1940, 9, 107.

Aron (E.) et Herschberg (A.). — Le dosage de la cholinestérase en clinique. *Presse médicale*, 1946, 7, 107.

Cristol, Passouant, Benezch, Dutarte. — *Presse médicale*, 1946, 40, 557.

Faber-Mogens. — The relationship between serum cholinesterase and serum albumin. *Acta med. Scandin.*, 1943, 114, 59.

Fiessinger (N.), Glomaud et Carlotti. — La cholinestérase dans les affections hépatiques. *Bull. de l'Acad. de méd.*, 1944, 17, 128.

Fiessinger (N.) et Glomaud. — La cholinestérase en pathologie hépatique. *Revue du foie*, 1945, 3, 129.

George (Mc). — *Lancet*, 1937, 1, 69.

Kaswin (A.). — La cholinestérase du sérum humain à l'état pathologique et dans divers états pathologiques. *Presse médicale*, 1945, 52, 713.

Laborit (H.) et Morand (P.). — *Presse médicale*, 1946, 7, 106.

Mendel (B.), Rudney. — Studies on cholinestérase. Cholinesterase and pseudo-cholinesterase. *Biochem. Journ.*, 1943, 37, 59.

Mendel (B.), Mundle (D.) et Rudney (H.). — Studies on cholinesterase : Specific tests for true cholinesterase and pseudocholinesterase. *Biochem. Journ.*, 1943, 37, 473.

Passouant. — Thèse médecine, Montpellier, 1943.

Prat (de). — Thèse pharmacie, Toulouse, 1945.

Sobotka et Antopol. — *Enzymologia*, 1937, 4, 189.

Vahlquist (B.). — *Scand. Arch. physiol.*, 1935. 72, 133.

Vincent (D.). — La cholinestérase du sérum en pathologie. *Ann. de biol. clin.*, 1946, 4, 101.

— Foie et enzymes du sérum. *Revue du foie*, 1946, 5, 7.

— Cholinestérase et pseudo-cholinestérase. *Presse médicale*, 1946, 41, 571.

Vincent (D.) et Brygoo. — Modifications de l'activité de la cholinestérase du sérum en fonction de la conservation. *Ann. de biol. clin.*, 1945, 3, 33.

IV. — La prothrombine.

Allen E. J.) and Jullian (O.). — Prothrombin and Hepatic function. *Arch. of surgery*, 1942, 45, 691.

Erfmann. — Au sujet de l'épreuve fonctionnelle du foie de Koller. *Revue du foie*, 1944, 3, 175.

Hansen, Begtrup. — Response of blood prothrombin to vitamine K as a measure of hepatic function. *Acta med. scandin.*, 43, 113, 1.

Jeanneret (H.). — Un nouveau procédé d'exploration fonctionnelle du foie : la mesure du temps de prothrombine. Thèse doctorat en méd., Genève, 1942.

— L'épreuve de saturation par la vitamine K. *Revue du foie*, 1946, 2, 103.

Kark and Souter. — Response to vitamine K : liver function test. *Lancet*, 1941, 2, 693.

Lord and Andrus. — Differentiation of intrahepatic and extrahepatic jaundice. *Arch. int. med.*, 1941, 68, 199.

Quick (J.). — Etat actuel de nos connaissances sur la prothrombine. *Le Sang*, 1946, 5, 28.

Salles (H.). — Techniques de mesure du taux de prothrombine dans le sang et hyperprothrombinémie gravidique. Thèse doctorat en méd., Bordeaux, 1946.

WARNER (E. D.). — Plasma prothrombin : effect of partial hepatectomis. *Journ. exp. med.*, 1938, 68, 831.

WARREN and RHOADS. — The hepatic origin of plasma prothrombin. *Amer. Journ. med. sc.*, 1939, 198, 193.

ZEMPLEN (B.). — La diminution de la prothrombine au cours des affections hépatiques. Action de la vitamine K. *Z. Klin. med.*, 1941, 139, 685.

Dépôt légal effectué en 1947 (1er trimestre).

24164. — Imprimeries Delmas, Bordeaux (31.0192). — 1947.